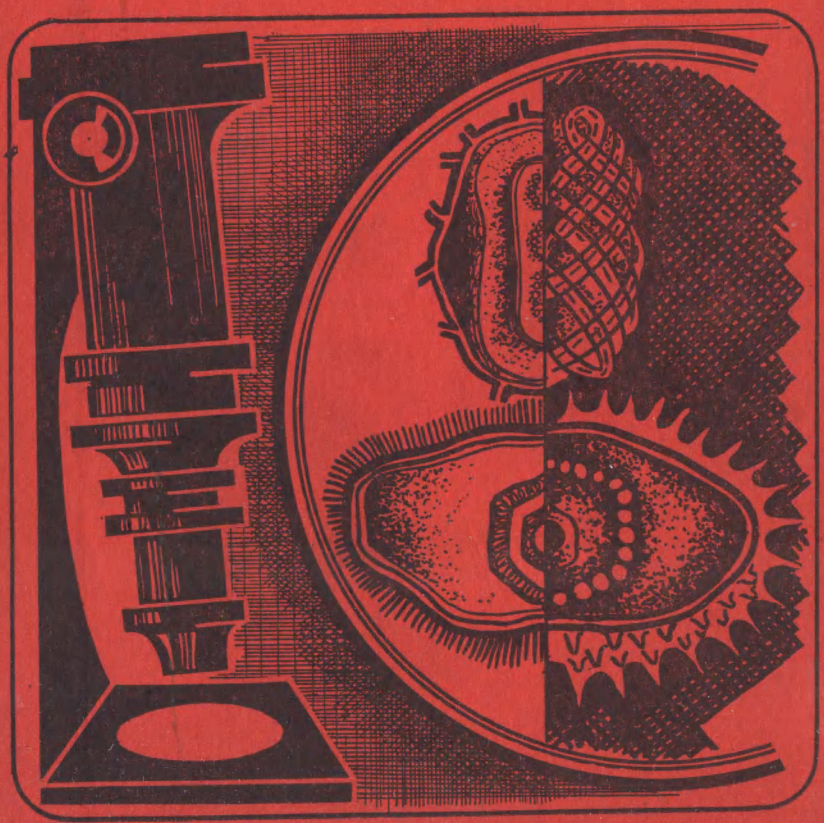
БИБЛИОТЕКА

ЗНАНИЕ

В.М. Жданов
Ф.И. Ершов
А.С. Новохатский

Тайны третьего царства



БИБЛИОТЕКА «ЗНАНИЕ»

В.М. Жданов
Ф.И. Ершов
А.С. Новохатский

Тайны третьего царства

Издание второе, переработанное

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЗНАНИЕ»
МОСКВА
1981

ББК 28.4
Ж42

ЖДАНОВ Виктор Михайлович, академик АМН СССР.
ЕРШОВ Феликс Иванович, доктор медицинских наук, профессор.
НОВОХАТСКИЙ Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук.

Жданов В. М., Ершов Ф. И., Новохатский А. С.
Ж42 Тайны третьего царства.— Изд. 2-е, перераб.— М.: Знание, 1981.— 192 с.+ 8 с. илл.— (Библиотека «Знание»).
50 к. 70 000 экз.

Есть «царство растений», есть «царство животных». Они известны с давних пор. В 1892 году выпускник Петербургского университета Д. Ивановский открыл еще одно «царство» — вирусное. Ныне к нему приковано внимание многих наук. Эти мельчайшие частички вещества, обладающие, по мнению авторов книги, всеми основными признаками живого, сопровождают нас со дня рождения, на их «совести» больше половины всех заболеваний. Книга, написанная учеными-вирусологами, рассказывает о строении и «повадках» вирусов, о методах, которыми исследуют их природу и способы существования.

Книга предназначена для широкого круга читателей.

Ж $\frac{21007-186}{073(02)-81}$ 27—81 2003000000 ББК 28.4
57А

© Издательство «Знание», 1975 г.
© Издательство «Знание», 1981 г.

О ЦАРСТВАХ, КОТОРЫЕ МЫ ВИДИМ И НЕ ВИДИМ
(Вместо введения)

Как это ни странно, такое сказочное понятие, как «царство», прижилось в науке. Есть царство растений, царство животных и невидимое царство вирусов, о котором будет рассказано в этой книге. Первые два царства относительно мирно сосуществуют друг с другом, третье — невидимое, агрессивное и коварное. Его представители не любят жить в мире ни друг с другом, ни с окружающими. В сущности, вирусы живут, пока сражаются, и погибают от бездействия. Несмотря на маленький размер, благодаря которому они проникают повсюду, вирусы очень прихотливы к пище. Они живут «взаймы» за счет клеток животных, растений и даже бактерий. Они приносят в основном вред и очень редко пользу, причем, если так можно выразиться, пользу через вред.

«В некотором царстве, в некотором государстве...» — так начинаются многие сказки. А дальше идет самое интересное — реальное переплетается с волшебным. Герои сказок — добры молодцы и красны девицы — попадают в сложные ситуации, встречаются с диковинными животными, но в конце концов все заканчивается, как правило, хорошо.

Итак, нас окружают два видимых и одно невидимое царство. О первых двух — царствах животных и растений — люди знают давно; третье, царство вирусов, открыто сравнительно нёдавно.

Скоро вирусология отпразднует свой первый вековой юбилей. Много это или мало? По сравнению с многовековой историей математики или астрономии 100 лет — это детский возраст. По сравнению с генной инженерией 100 лет — довольно много. А на самом деле у наук нет возраста, а есть прозаическое «состояние на данный отрезок времени». Перефразируя известное изречение Френсиса Бэкона, можно сказать, что науки, подобно людям, имеют свою юность. Но науки никогда не бывают старыми. Сейчас вирусология находится в периоде зрелости. Детство,

отрочество и юность нашей науки продолжались сравнительно недолго, приблизительно полвека. Все эти годы она исправно училась у своей старшей сестры — микробиологии. Это было не случайно. Между вирусами и бактериями, по крайней мере болезнетворными, есть черты сходства: и те и другие паразиты, они вызывают заболевания, которые называются инфекционными (заразными). И те и другие невидимы. Но, пожалуй, на этом сходство кончается. При более детальном рассмотрении оказывается, что сравнивать бактерии и вирусы — это примерно то же, что сравнивать льва и муравья. Правда, и в этом случае можно говорить о существовании некоторого сходства — оба двигаются, едят, дышат, размножаются. Хотя лев и муравей — не ровня, но, как оказалось, между львом и муравьем близости гораздо больше, чем между бактерией и вирусом.

Животный мир обширен и многолик. Какое разнообразие форм! От слона до муравья, от морского льва до рыбки в аквариуме, от орла до мухи. Люди наделили животных своими человеческими качествами, и от этого они стали нам еще ближе.

Царство растений не менее многообразно, хотя и не так индивидуально. Деревья и травы, мхи и водоросли, цветы и ягоды — со всем этим мы знакомимся с раннего детства, учимся отличать полезные от вредных. В ботанических садах собраны растения различных стран, и можно сравнить их друг с другом. Растения прочно привязаны к земле, они не могут бегать или летать, как животные. Есть у них и еще множество своих специфических отличий.

С царством вирусов дело обстоит гораздо сложнее. Они слишком малы, чтобы их видеть. Если попытаться собрать коллекцию из всех известных вирусов, то она свободно поместилась бы в коробочке размером с маковое зернышко.

Вирусы — это слово все чаще и чаще встречается в общей и в специальной литературе, так как они стали объектом изучения многих наук.

Для медика вирусы — наиболее частые возбудители инфекционных болезней: гриппа, кори, оспы, тропических лихорадок.

Для патолога вирусы — этиологические агенты (причина) рака и лейкозов, наиболее частых и опасных патологических процессов.

Для ветеринарного работника вирусы — виновники эпизоотий (массовых заболеваний) ящура, птичьей чумы, инфекционной анемии и других болезней, поражающих сельскохозяйственных животных.

Для агронома вирусы — возбудители пятнистой полосатости пшеницы, табачной мозаики, желтой карликовости картофеля и других болезней сельскохозяйственных растений.

Для цветовода вирусы — факторы, вызывающие появление изумительных расцветок тюльпанов.

Для медицинского микробиолога вирусы — агенты, вызывающие появление токсических (ядовитых) разновидностей дифтерийных или других бактерий, или факторы, способствующие развитию бактерий, устойчивых к антибиотикам.

Для промышленного микробиолога вирусы — вредители бактерий, продуцентов антибиотиков и ферментов.

Для паразитолога вирусы — наиболее частые и наиболее опасные паразиты всего живого мира: от бактерий до цветкового растения, от инфузории до человека.

Для генетика вирусы — переносчики генетической информации.

Для дарвиниста вирусы — важные факторы эволюции органического мира.

Для эколога вирусы — факторы, участвующие в формировании сопряженных систем органического мира.

Для биолога вирусы — наиболее простые формы жизни, обладающие всеми основными ее проявлениями.

Для философа вирусы — ярчайшая иллюстрация диалектики природы, пробный камень для шлифовки таких понятий, как живое и неживое, часть и целое, форма и функция...

Три главных обстоятельства обусловили развитие современной вирусологии, сделав ее своеобразной точкой (или почкой) роста медико-биологических наук.

Во-первых, вирусы — возбудители важнейших болезней человека, сельскохозяйственных животных и растений, и значение их все время возрастает по мере снижения заболеваемости бактериальными, протозойными и грибковыми болезнями.

Во-вторых, ныне признается, что вирусы являются возбудителями рака, лейкозов и других злокачественных опухолей. Поэтому решение проблем онкологии теперь зависит от познания природы возбудителей рака и механиз-

мов канцерогенных (опухолеродных) превращений нормальных клеток.

В-третьих, вирусы — это простейшие формы жизни, обладающие основными ее проявлениями, своего рода абстракция жизни, и поэтому служат наиболее благодарным объектом биологии вообще и молекулярной биологии в особенности. Подобно тому как в прошлом мушка дрозофила стала излюбленной моделью для исследований по классической генетике, так и вирусы (особенно вирусы, поражающие бактерии) служат теперь главной моделью для исследований по молекулярной биологии и генетике.

Вирусология проделала интенсивную эволюцию. Собственно, открытие вирусов физиологом растений Дмитрием Иосифовичем Ивановским в 1892 году было прозаичным и будничным.

Молодой выпускник Петербургского университета поехал в Крым, где в то время плантации табака были поражены болезнью, приносившей большие убытки. Листья табака покрывались сложным абстрактным рисунком. Мертвые участки растекались, как чернила на промокашке, и распространялись с растения на растение.

Конец XIX века ознаменовался крупными достижениями в микробиологии, и, естественно, Ивановский решил узнать, не вызывает ли табачную мозаику какая-нибудь бактерия. Он просмотрел под микроскопом множество больных листьев, но тщетно — никаких признаков бактерий обнаружить не удалось. «А может быть, они такие маленькие, что их нельзя увидеть?» — подумал ученый. Если это так, то они должны пройти через фильтры, которые задерживают на своей поверхности обычные бактерии. Ивановский поставил множество опытов и доказал, что «заразное начало» преодолевает все фильтры, не пропускающие бактерии. «Значит, это нечто новое»,— решил ученый. Через 6 лет была доказана вирусная природа ящура, еще через 10 лет — вирусная природа саркомы кур, потом были открыты вирусы, поражающие бактерии, а затем все новые и новые вирусы посыпались, как из рога изобилия. И здесь мы с гордостью можем сказать, что в течение первых 30 лет со дня рождения новой науки о вирусах — вирусологии исследователи использовали пионерские идеи и экспериментальные принципы, разработанные отцом этой науки Дмитрием Иосифовичем Ивановским. Здесь возникает законный вопрос, почему именно Ивановский открыл вирусы? Случайность? По логике

вещей можно было ожидать, что это должен был сделать кто-нибудь из микробиологов, а не физиолог растений.

В науке много таких парадоксов. Торговец сукном Антони Левенгук изобрел первый микроскоп и открыл новый мир организмов — мир микробов. Зоолог Илья Мечников заложил основу иммунологии. Наверно, классический микробиолог, столкнувшись с вирусами, попытался бы их вырастить и разглядеть в микроскоп... и потерпел бы неудачу в обоих случаях. «Ложные идеи походят на неправильные камни, которые не могут идти на постройку дома»,— сказал Бернард Фонтенель. Иногда нужны смелость и непредвзятость суждений неискушенного человека, чтобы увидеть суть явлений, ранее необъяснимых.

Нас до сих пор не перестает удивлять простота и абсолютная достоверность опытов, подготовленных Ивановским, и прозорливая четкость сделанных им выводов.

«Все мысли, которые имеют огромные последствия, всегда просты»,— сказал Л. Н. Толстой. Так были открыты вирусы. Но не будем забегать вперед. Еще задолго до замечательного открытия Ивановского люди встречались с вирусами и несли ощутимый урон от этих встреч.

Вирусы вездесущи, их можно найти повсюду, где есть жизнь. Можно даже сказать, что вирусы — своеобразные «индикаторы жизни». Они наши постоянные спутники и со дня рождения сопровождают нас всегда и везде. Вред, который они причиняют, очень велик. Достаточно сказать, что «на совести» вирусов больше половины всех заболеваний человека, а если вспомнить, что эти мельчайшие из мелких поражают еще животных, растения и даже своих ближайших родственников по микромиру — бактерии, то станет ясно, что борьба с вирусами — одна из первоочередных задач. Но чтобы успешно бороться с коварными невидимками, необходимо детально изучить их свойства.

История знакомства и борьбы человека с вирусами полна трагических происшествий. Эти крошечные существа тысячелетиями вызывали опустошительные эпидемии, принося людям смерть и разорение. Частокол крестов, плантации погибших полезных растений, вереницы слепых, парализованные дети — вот итоги разрушительной деятельности вирусов. Оспа, бешенство, полиомиелит, корь, грипп, ящур, гепатит, энцефалиты, свинка — более 200 разных вирусных инфекций поражают человека, и все эти преступления вирусов веками оставались безнаказанными. Люди были бессильны что-либо сделать. Они

молились каждый своему богу и уповали на чудо. Лишь в самое последнее время пришли первые успехи в борьбе с вирусами.

Так началась планомерная борьба с невидимым врагом. Шаг за шагом, ставя тысячи опытов, самоотверженно шли вирусологи по тернистому пути познания. Постепенно был накоплен огромный фактический материал, касающийся строения, химического состава и болезнетворных свойств вирусов. Были разработаны и изящные методы вирусологического анализа.

Особенно интенсивно учение о вирусах развивалось во второй половине XX века, когда было обнаружено, что эти мельчайшие внутриклеточные паразиты могут быть использованы как удобные инструменты познания общебиологических закономерностей.

Полученные с помощью вирусов факты занимают важное место в системе доказательств единства органического мира. Генетический код, способы воспроизведения генетической информации, биосинтез белков подчиняются, как оказалось, принципам, общим и для вирусов и для такого высокоорганизованного живого существа, как человек. Обо всем этом мы и попытаемся рассказать в нашей книге в пределах и возможностях, обусловленных ее объемом.

Экскурсия первая ВЕЧНЫЕ СТРАННИКИ, ИЛИ ПЫЛЬ НЕВЕДОМОГО

Чудесное исчезает, как только его исследуют.

Франсуа Вольтер

В мире парадоксов

Приступая к изучению вирусов, мы должны отрешиться от обычных понятий и окунуться в мир парадоксов.

Парадокс первый. С давних времен бессознательно, а с середины прошлого века — сознательно люди применяли для борьбы с болезнями разные средства дезинфекции. Одним из таких еще недавно популярных средств был фенол, в просторечии называемый карболкой. 3—5-процентный раствор карболки убивает все живое — эта истина известна со школьной скамьи. Столь же привычно применение спирта: человек познает это с детства, когда заботливая мать обеззараживает порез или царапину спиртовой настойкой йода, прежде чем сделать перевязку.

Но... чтобы выделить заразное начало вируса, следует, гласит соответствующая методика, вируссодержащую суспензию смешать с ферментом, который разрушит и удалит белки и... сохранит «заразное начало» (мы далее увидим, что им являются нуклеиновые кислоты). Затем водную часть смеси, в которой оно содержится, осаждают двойным объемом спирта и хранят в таком виде при температуре ниже нуля.

Итак, «заразное начало» вируса (его нуклеиновая кислота) выделяется с помощью фенола и хранится в спирту!

Парадокс второй. Открытие антибиотиков вызвало переворот в лечении и профилактике бактериальных болезней. В настоящее время известны десятки новых антибиотиков, но по-прежнему сохранили славу пенициллин и стрептомицин, комбинация которых наиболее эффективно охватывает своим действием большинство известных патогенных бактерий.

Но... чтобы выделить вирус из носоглотки или фекалий больного, на культуре ткани или в курином эмбрионе, необходимо, снова гласит инструкция, для предохранения вируса и культуры ткани от разрушающего действия бактерий в исследуемый материал (смыв из носоглотки,

суспензию фекалий и пр.) добавить смесь больших доз (100 и более единиц) пенициллина и стрептомицина.

Итак, антибиотики, убивающие бактерии, сохраняют вирусы!

Парадокс третий. Представьте себе, что мы расчленили растение или животное на химические составные части (белки, нуклеиновые кислоты, жиры, углеводы и т. д.), а затем, смешав эти составные части, захотели бы таким путем получить исходный вид растений или животного. Сама мысль поставить такой опыт представляется абсурдной, впрочем не лишенной привлекательности для писателей-фантастов. Даже технически более простой эксперимент — расчленение клетки на «простые» составные, структурные, части (ядро, оболочку, цитоплазму, митохондрии, рибосомы) и затем их смешивание — не приведет к эффекту — клетку восстановить не удастся.

Но... вирусолог, освоивший основы вирусологической техники, может повторить эксперимент, поставленный немецкими исследователями Гирером и Шраммом в 1957 году. Эти авторы разрушили вирус табачной мозаики, выделив его две составные части — нуклеиновую кислоту и белок. Затем они смешали обе части и... получили исходный жизнеспособный вирус со всеми его биологическими свойствами.

Позже были поставлены такие опыты: смешивали нуклеиновую кислоту одного вируса (назовем его вирусом Б) с белками другого вируса (назовем его вирусом А). Получался своеобразный, но вполне жизнеспособный гибрид. По ряду свойств он был тождествен вирусу А, но уже в первом поколении давал потомство вируса Б.

Наконец, смешивали вирусную нуклеиновую кислоту с клеточными белками и, представьте, также получали жизнеспособный вирус. А еще позже (об этом будет сказано далее) было показано, что подобного рода гибриды образуются и естественным путем и играют важную роль в формировании хронических вирусных болезней.

С подобного рода парадоксами вирусолог встречается часто. О двух из них — об исчезновении вирусных индивидуумов в ходе размножения вируса и о том, как вирус может стать частью клетки, не теряя своей индивидуальности, мы расскажем в третьей и четвертой экскурсиях.

Несмотря на многолетнее развитие учения о вирусах, до сих пор нет общепринятого определения: что же такое вирусы?

Первооткрыватель вирусов Ивановский выявил два их кардинальных свойства: они проходят через фильтры, задерживающие бактерии, и их невозможно выращивать на искусственных питательных средах. Долгое время эти свойства считались основными, отличающими вирусы от других форм жизни и прежде всего от других микроорганизмов — бактерий, грибков, простейших.

Название «фильтрующиеся вирусы» сохранилось до конца 30-х и начала 40-х годов, но постепенно имя прилагательное стало утрачиваться. Оказалось, что проходимость через бактериальные фильтры, зависящая от малых размеров (менее 0,5 микрометра), присуща не только вирусам, но и бактериям. При изучении последних открыты такие их стадии или формы, для которых поры фильтра названного размера не служили непреодолимым препятствием. Это так называемые L-формы бактерий; их в нашей стране подробно изучал академик В. Д. Тимаков со своими учениками.

Был открыт целый класс наиболее мелких бактерий — микоплазмы: они, как и вирусы, также проходят через обычные бактериальные фильтры.

Таким образом, фильтруемость, зависящую от малых размеров (менее 0,5 микрометра), нельзя считать свойством, отличающим вирусы от других микроорганизмов, а поэтому и не было оснований сохранять прилагательное «фильтрующиеся».

Так фильтрующиеся вирусы стали просто вирусами.

Неспособность расти на искусственных питательных средах отражает степень паразитизма. И действительно, свободно живущие бактерии, простейшие и грибки легко выращиваются на простых питательных средах, в то время как паразитические их виды требуют более сложных питательных сред, в состав которых входят витамины, гормоны, плазма или сыворотка крови, эритроциты, тканевые экстракты и пр. Вирусы не растут даже на самых сложных по своему составу питательных средах и развиваются только в живых клетках. Поэтому невозможность размножения на искусственных питательных средах

долгое время считалась основным критерием отличия вирусов от других микроорганизмов.

Но со временем и этот критерий был поколеблен. Были открыты микроорганизмы, оказавшиеся бактериями, не размножающиеся даже на самых сложных питательных средах. Это риккетсии и хламидии. Риккетсии вызывают сыпной тиф, пятнистые лихорадки и другие инфекционные болезни. Хламидии — возбудители трахомы, некоторых форм пневмонии (воспаление легких), паховой гранулемы, а также ряда заболеваний животных.

Как риккетсии, так и хламидии относятся, наряду с упоминавшимися ранее микоплазмами, к наиболее мелким микроорганизмам бактериальной природы. Подобно вирусам, они проходят через бактериальные фильтры и не растут на искусственных питательных средах, а размножаются лишь внутриклеточно. Неспособность расти на искусственных питательных средах присуща и некоторым простейшим, например малярийным плазмодиям.

Живая клетка — вот единственно возможная среда обитания для вирусов, риккетсий, хламидий и некоторых простейших.

Впрочем, так ли это? Вчера это было правильным, а сегодня наука вносит свои коррективы. Долгое время признавалось незыблемым, что для развития вируса нужна цельная, жизнеспособная клетка. Но вот из клетки удалили ядро, и было показано, что многие вирусы могут размножаться в нежизнеспособной клетке, то есть в лишенной ядра. Стали фракционировать, дробить клетку, извлекая из нее составные части — ядра, митохондрии, рибосомы. Оказалось, что вирусы могут размножаться, например, в изолированных митохондриях. Возник целый раздел вирусологии — применение бесклеточных, а точнее, субклеточных, систем для изучения репродукции вирусов. По этому разделу вирусологии уже написаны монографии. А как же быть с цельной клеткой? Выяснилось, что многие вирусы для своего размножения не нуждаются в цельной клетке, им достаточно лишь одной ее определенной части.

Итак, два первоначальных критерия, на основании которых вирусы были выделены среди других микроорганизмов, не устояли перед проверкой в эксперименте.

Что же такое вирусы и чем они отличаются от сходных с ними микроорганизмов?

На этот вопрос мы постараемся ответить после того, как вооружим читателя основными сведениями о строении вирусов.

Так ли уж прост вирус?

Ответ на этот вопрос зависит от того, с чем вы сравниваете вирус.

Конечно, вирус необычно прост, если его сопоставить с клеткой. Сравним объем генетической информации, содержащейся в вирусе полиомиелита, с объемом генетической информации, содержащейся в клетке млекопитающего, а чтобы упростить расчеты, будем считать, что объем информации пропорционален молекулярной массе или просто массе нуклеиновой кислоты, то есть генома соответственно вируса или клетки.

Масса генома вируса $5 \cdot 10^{-15}$ миллиграмма.

Масса генома клетки $5 \cdot 10^{-9}$ миллиграмма.

$$\frac{5 \cdot 10^{-15}}{5 \cdot 10^{-9}} = 10^{-6}.$$

Это означает, что среднего размера вирус содержит лишь одну миллионную долю генетической информации, которую вмещает клетка. А ведь вирус полиомиелита не самый мелкий в царстве вирусов, есть и поменьше!.. (Заметим в скобках, что, как это ни странно, при встрече столь примитивного существа, как вирус, со столь сложной системой, как клетка, победа нередко остается за вирусом.)

Но вирус совсем не прост, если сравнить его с рядом полимеров.

Молекулярная масса генома наиболее мелких вирусов не превышает одного миллиона. Можно назвать немало искусственных полимеров с бóльшей молекулярной массой. Однако все эти синтетические полимеры, несмотря на громадные (относительно!) размеры,— мертвая материя, тогда как в молекуле вирусной нуклеиновой кислоты — даже в самой мелкой — заложена информация, как надо жить и воспроизводить себе подобных. При таком сравнении вирус — или даже его генетический аппарат — представляется необычайно сложным по сравнению с самыми сложными и гигантскими химическими молекулами и надмолекулярными образованиями — полимерами.

Собственно говоря, мы уже и начали рассказывать о строении вирусов, так как назвали одну из основных его

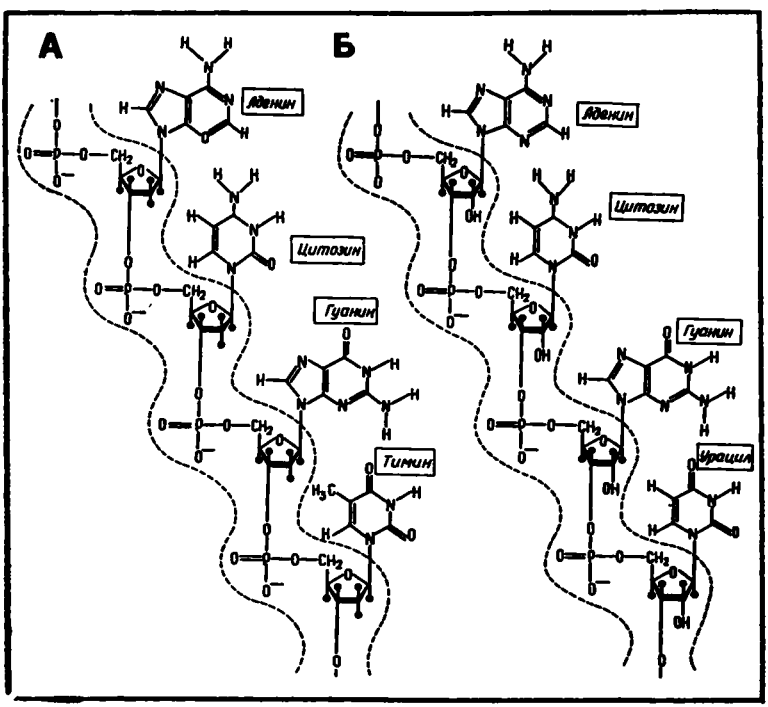
частей — нуклеиновую кислоту, являющуюся генетическим веществом, геномом вируса.

Итак, из чего состоят и как устроены вирусы?

Наиболее простые из них состоят из двух биологических полимеров — нуклеиновых кислот и белков.

Напомним читателю, что нуклеиновая кислота представляет собой линейный полимер, состоящий из чередующихся остатков более простых соединений — нуклеотидов. В свою очередь, нуклеотиды являются соединением остатков фосфорной кислоты, углевода и одного из четырех оснований. В состав нуклеотида может входить один из двух углеводов — рибоза или дезоксирибоза, и в зависи-

Рис. 1. Структура одноцепочных ДНК *(А)* и РНК *(Б)*. Главная цепь, ограниченная двумя волнистыми линиями, представляет собой чередование сахарных и фосфатных групп. К каждой сахарной группе прикреплены боковые цепи — одно из четырех оснований, последовательность которых определяет содержание генетической информации



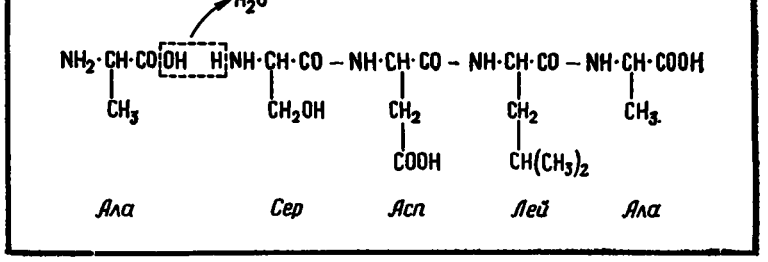
мости от этого существуют два типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). В состав рибонуклеиновой кислоты входят основания: гуанин, аденин, цитозин и урацил; в дезоксирибонуклеиновую кислоту вместо урацила входит тимин. Все это показано на схеме (рис. 1).

Важная особенность нуклеиновых кислот — комплементарность (взаимная дополнительность) их оснований. Это зависит от того, что при определенной ориентации в пространстве основания взаимодействуют между собой слабыми химическими (так называемыми водородными) связями. При этом аденин всегда взаимодействует только с урацилом или тимином, а гуанин — с цитозином, как это показано на схеме (рис. 2 на вкладке).

Генетический аппарат вирусов представлен всеми возможными формами нуклеиновых кислот: однонитчатой и двухнитчатой РНК, однонитчатой и двухнитчатой ДНК, причем последняя может быть линейной или циркулярной. Такого разнообразия не знают другие формы жизни — растения или животные: их генетический аппарат всегда состоит из двухнитчатой ДНК, а рибонуклеиновой кислоте отведена роль источника и переносчика информации, и она всегда однонитчата. На примере вирусов природа как бы пробовала разные варианты генетического материала и, остановившись на двухнитчатой ДНК, сохранила ее затем на всем протяжении эволюции...

Размеры молекулы нуклеиновой кислоты колеблются в широких пределах: молекулярная масса РНК наиболее

Рис. 3. Образование полипептидной цепи. Полипептидная связь возникает при отщеплении молекулы воды от групп COOH и NH_2 молекул соседних аминокислот. Внизу даны сокращенные названия аминокислот: аланина, серина, аспарагина и лейцина



мелких вирусов не превышает одного миллиона, а ДНК наиболее крупных вирусов имеет молекулярную массу около 250 миллионов. В первом примере геном вируса содержит всего 3000 нуклеотидов, во втором — их 750 тысяч!

Другой основной биополимер, из которого построены вирусы,— белки. Белки также состоят из более простых соединений — аминокислот. Двадцать аминокислотных остатков соединены линейно (рис. 3), образуя цепь разной длины: молекулярная масса белков колеблется от немногих тысяч до сотен тысяч. Белковая (полипептидная) цепь свертывается, и получается характерная для каждого белка фигура.

Сравнительно недавно удалось полностью расшифровать химическое строение первого вируса. Им оказался наиболее просто устроенный бактериофаг MS-2, в РНК которого закодировано всего три белка: А-белок, белок оболочки и репликаза. Важно заметить, что РНК этого фага сама служит матрицей для образования белков. Как оказалось, она содержит 3569 нуклеотидов, 129 из них располагаются в «начале» молекулы и не транслируются, последующие 1179 нуклеотидов содержат информацию для А-белка, 390 — для белка оболочки и, наконец, 1635 — для самого крупного белка — фермента репликазы, который делает дочерние копии РНК. Между всеми этими структурными участками располагаются своеобразные «запятые», состоящие из 26 и 36 нуклеотидов, а в «конце» молекулы находится заключительная «точка», вмещающая 174 нуклеотида.

Существует строгое соответствие между генетическим кодом (последовательностью нуклеотидов) и аминокислотным составом получаемых белков. Дополнительная проверка аминокислотной последовательности белков фага MS-2 точно соответствовала предсказанной теоретически (по нуклеотидам).

Итак, две основные химические составные части вирусов — нуклеиновые кислоты и белки. Наиболее просто организованные, они ничего другого не имеют. Но более сложно организованные вирусы имеют в своем составе углеводы, липиды (жиры) и другие химические соединения.

Архитектура вирионов

Мы встречаемся с двумя новыми терминами. До сих пор мы говорили о вирусах, а теперь появилось новое слово «вирион». Это слово заменило ранее применявшиеся обозначения — вирусная частица, элементарное тельце и др.— и означает вирусную особь, или вирусный индивидуум. Вместо неопределенных неодушевленных частиц и телец появилась «личность» — вирион. Вирус получил право гражданства среди многочисленных особей органического мира рядом с дубом и львом...

А вот слово «архитектура» для вирусов не образное выражение, а технический термин. Мы не говорим об архитектуре льва или дуба и не описываем, как строится лев или дуб, о вирионах же так говорят: архитектура вириона.

Термин «архитектура вирионов» появилась в начале 60-х годов, когда были усовершенствованы электронные микроскопы, позволившие получить четкие изображения вирионов с увеличением в десятки и сотни тысяч раз. Оказалось, что вирионы представляют собой правильные, симметричные стереометрические тела, состоящие из повторяющихся элементов. Тогда-то и потребовалась помощь математиков, специалистов раздела этой науки, называемого топологией, чтобы понять, как построены вирионы.

Топологи подошли к решению задачи без груза предрассудков и предубеждений. Дано: кирпичи неправильной, но строго определенной формы; требуется построить спираль, или, точнее, винт, с наибольшей экономией; результат: определен шаг спирали, внутренний и внешний диаметры, вычерчена фигура во всех необходимых проекциях для архитектора или строителя. Дано: снова кирпичи; требуется построить тело, приближающееся к шарообразной форме с заданным объемом полости; результат: наиболее экономичная укладка кирпичей (в виде фигуры икосаэдра), расчет количества кирпичей и способа их укладки. В обоих случаях — дешевизна и прочность, так как заказчик умеет считать деньги и не тратит их попусту.

Теперь заменим коммерческое выражение «дешевизна» на термодинамический термин «минимальный уровень свободной энергии», и все станет на свои места. В основе строения вирионов, взаимодействия белковых молекул между собой и с молекулой нуклеиновой кислоты лежат законы термодинамики, то есть именно они определили

правильную кристаллообразную структуру вирионов. Эти структуры образуются в результате самосборки, и возможные ошибки в процессе самосборки исправляются под действием тех же термодинамических законов: если тело, составленное из элементов, не достигло минимального уровня энергии, оно неустойчиво, и, наоборот, устойчивость приобретается при достижении минимального уровня энергии.

Теперь нам становится понятным третий парадокс (см. стр. 10): смешивание нуклеиновых и белковых компонентов вирионов с неизбежностью приводит к реконструкции исходных структур или к тому, что получило в вирусологии название самосборки.

Мы назвали задачи, которые безымянный заказчик (назовем теперь его Природой) задал топологу: построить с наибольшей экономией спираль (винт) или икосаэдр. Фигуры, лежащие в основе решения этих двух задач, и являются двумя основными типами архитектуры вирионов. На языке тополога это означает, что вирионы могут быть построены по одному из двух типов симметрии: спиральной или кубической.

Спиральный тип симметрии не требует особых пояснений: после полного оборота (360°) фигура занимает исходное положение (рис. 4 на вкладке).

Кубический тип симметрии означает, что существуют три оси вращения, при которых определяется симметрия фигуры. Для икосаэдра эти перпендикулярные друг другу оси симметрии обозначаются соотношением 2 : 3 : 5. Если смотреть вдоль первой оси вращения, мы увидим две грани икосаэдра, которые совмещаются при повороте фигуры на 180° (360° : 2); если вдоль второй оси — три грани, которые совмещаются при повороте фигуры на 120°. Вдоль третьей оси грани совмещаются при повороте на 72° (рис. 4Б).

По спиральному типу симметрии построено большинство вирусов, поражающих растения, а также некоторые вирусы бактерий. Кубический тип симметрии у многих вирусов человека и животных — вирусов полиомиелита и ящура, аденовирусов, вызывающих заболевания дыхательных путей, и др.

Однако существуют вирусы с более сложным строением (рис. 5 на вкладке). Так, вирусы гриппа и парагриппа имеют сердцевину (нуклеотид) в виде туго свернутой спирали (спиральный тип симметрии) и внешние оболоч-

ки, образующие шаровидное тело, с кубическим типом симметрии. Некоторые бактериофаги (бактериальные вирусы) еще более сложны: головка их представляет полный икосаэдр, в котором заключено генетическое вещество вируса. К одной из вершин икосаэдра прикреплен полый отросток, окруженный чехлом из сократительного белка. На конце отростка пластинка и шесть нитей. Как мы увидим дальше, это сложное устройство обеспечивает возможность введения генетического материала фага внутрь бактериальной клетки (см. экскурсию третью). Вирус оспы, этот Гулливер среди лилипутов, устроен еще более сложно (рис. 6 на вкладке).

Мы говорили, что архитектура вирионов зависит от свойств их составных частей, которые укладываются в единственно возможные фигуры с минимальным уровнем свободной энергии. При этом происходит самосборка составных частей вириона, в результате которой и получаются геометрически правильные фигуры. Однако возможны и ошибки в процессе самосборки, и тогда образуются аномальные (неправильные) формы вирионов, особенно когда речь идет о сложно устроенных вирусах. Появляются неполные вирионы — пустышки, лишенные нуклеинового содержания, нитевидные формы вместо шарообразных, эллипсоиды вместо икосаэдров (см. рис. 6).

Микрокосмос живого

Встречаясь с разнообразием живого мира, который нередко с первого взгляда кажется хаосом (великий классификатор и систематик Линней обозначил весь мир микроорганизмов хаосом!), натуралист пытается навести порядок в этом хаосе, раскладывая сходные виды по полочкам, классифицируя их. Естественно, что такие попытки предпринимались и в отношении вирусов. Сначала их классифицировали по видам поражаемых хозяев: вирусы растений, вирусы животных, вирусы бактерий, вирусы простейших. Затем выделяли более мелкие группы — вирусы человека, вирусы приматов, вирусы грызунов и т. п.

(Примитивизм и несовершенство этой классификации были ясны с самого начала, так как уже на заре вирусологии было известно, что многие вирусы поражают несколько видов хозяев: вирус ящура вызывает заболевания рогатого скота и человека, вирус клещевого энцефалита

поражает грызунов и человека, а вирус бешенства — все виды млекопитающих.)

Затем стали классифицировать вирусы по симптомам (признакам) болезней, ими вызываемым. Так появилась группа респираторных вирусов, то есть вирусов, вызывающих заболевания дыхательных путей, группа вирусов энцефалитов, группы вирусов геморрагических лихорадок и пр. И эта классификация, удобная для клинициста, недолго просуществовала, так как, с одной стороны, разнородные вирусы могут вызывать сходные заболевания (сравним просто организованный вирус клещевого энцефалита и сложно устроенный вирус бешенства), с другой стороны, один и тот же вирус может вызывать разные формы болезни. Например, вирус полиомиелита может вызвать легкую лихорадку или тяжелое поражение центральной нервной системы со стойкими параличами.

Подлинно научная классификация вирусов стала возможной только после того, как узнали о химическом составе и строении вирусов. Поскольку основу всего живого составляют генетические структуры, то и вирусы стали классифицировать по характеристике их наследственного вещества — нуклеиновых кислот. Поэтому все вирусы подразделяют на две большие группы: ДНК-содержащие вирусы (дезоксивирусы) и РНК-содержащие вирусы (рибовирусы). Затем каждую из этих групп подразделяют далее на вирусы с однонитчатой и двухнитчатой нуклеиновыми кислотами. Следующий критерий — тип симметрии вирионов, наличие или отсутствие внешних оболочек и т. п.

В таблице представлена современная классификация вирусов и приведены в качестве примеров наиболее известные вирусы.

Классификация вирусов

I. Дезоксивирусы.
1. ДНК двухнитчатая.
1.1. Кубический тип симметрии.
1.1.1. Без внешних оболочек: аденовирусы, паповавирусы.
1.1.2. С внешними оболочками: герпес-вирусы.
1.2. Смешанный тип симметрии: Т-четные бактериофаги.
1.3. Без определенного типа симметрии: оспенные вирусы.
2. ДНК однонитчатая.

2.1. Кубический тип симметрии.
2.1.1. Без внешних оболочек: крысиный вирус Килхама, аденосателлиты, фаг φX 174.
II. Рибовирусы.
1. РНК двухнитчатая.
1.1. Кубический тип симметрии.
1.1.1. Без внешних оболочек: реовирусы, вирусы раневых опухолей растений.
2. РНК однонитчатая.
2.1. Кубический тип симметрии.
2.1.1. Без внешних оболочек: полиовирус, энтеровирусы, риновирусы.
2.2. Спиральный тип симметрии.
2.2.1. Без внешних оболочек: вирус табачной мозаики.
2.2.2. С внешними оболочками: вирусы гриппа, парагриппа, бешенства, онкогенные РНК-содержащие вирусы.

Приведенная таблица имеет некоторое сходство с таблицей Менделеева — в ней тоже есть незаполненные места. Так, например, до сих пор неизвестны дезоксивирусы со свойствами 2.2 (однониточная ДНК, спиральный тип симметрии) или рибовирусы со свойствами 1.2 (РНК двухнитчатая, спиральный тип симметрии). Может быть, таких вирусов и нет в природе, а может быть, их еще не открыли. Недавно рибовирусы со свойствами 1.1.1 не были известны, но затем оказалось, что таким свойством обладают реовирусы и сходные с ними вирусы раневых опухолей растений. То же относится и к дезоксивирусам со свойствами 2.1.1; они стали известны совсем недавно.

Ближайшие годы покажут, реализовала ли природа все возможные схемы строения вирусов или некоторые из них оказались нежизненными и поэтому нереализованными.

Из таблицы также видно, что разнообразие в царстве вирусов значительно более выражено, нежели в растительном и животном царстве, если за основу взять характеристику генетических структур. В самом деле, все животные и растения — от амебы до человека и от бактерии до цветкового растения — имеют генетический материал в виде двухнитчатой ДНК. У вирусов генетическим материалом могут быть однонитчатые и двухнитчатые формы обеих нуклеиновых кислот. С этой точки зрения различия между вирусами полиомиелита и оспы гораздо более существенны, нежели между бактерией и человеком!..

Может, пора уже ответить на вопрос: что же такое вирусы? Мы уже знаем, что ни размеры, ни фильтруемость, ни паразитизм не могут быть критериями для того, чтобы отличать вирусы от других микроорганизмов. Зато мы знаем также, что любой из вирусов имеет в своем составе только и всегда одну нуклеиновую кислоту — либо ДНК, либо РНК. В то же время даже у самых примитивных бактерий (микоплазмы, риккетсии, хламидии) всегда есть две канонические формы нуклеиновых кислот: двухнитчатая ДНК, хранительница генетической информации, и однонитчатая РНК, выполняющая роль посредника и некоторые другие функции, о которых мы расскажем позже. Найдя однажды эти наиболее совершенные формы хранения и передачи генетической информации, природа осталась верна им на всем протяжении эволюции до самых высших форм органического мира.

Характер генетического материала и определяет, вероятно, главное отличие вирусов от невирусов. Впрочем, позже мы увидим, что и это отличие относительно, что есть иные, не менее существенные отличия вирусов от других представителей органического мира.

А пока займемся ближайшими соседями вирусов: соседями справа и соседями слева.

Ближайшие соседи

Долгое время соседи справа — хламидии, риккетсии и отчасти микоплазмы считались крупными вирусами или во всяком случае формами жизни, весьма сходными с вирусами. Даже в монографиях, вышедших в середине 50-х годов, хламидии и риккетсии рассматривались как вирусы.

Фильтруемость и неспособность размножаться на искусственных питательных средах роднила этих мелких паразитов с вирусами. Не удивительно, что техника исследований хламидий и риккетсий более сходна с вирусологической, нежели с бактериологической. Лишь более глубокое исследование химического состава и строения этих организмов установило их сходство с бактериями, а не вирусами.

Мы уже говорили, что природа, столь либерально относящаяся к генетическому веществу вирусов, установила строгие каноны для всех других форм жизни на земле. Этот канон стал обязательным для хламидий, риккетсий и микоплазм.

Любая клетка животного или растения отделена от внешней среды тонкой оболочкой — двухслойной мембраной, построенной из молекул белков и жиров. Через мембрану поступают в клетку питательные вещества и кислород, через нее же выделяются продукты обмена веществ. У вирусов нет мембраны.

У растительных клеток, включая бактерии, кроме мембраны, есть еще клеточная стенка — прочное ригидное образование, своего рода панцирь, в который заключена клетка. Хламидии, риккетсии и микоплазмы имеют и мембрану, и клеточную стенку (иногда весьма редуцированную, почти исчезнувшую), и поэтому их относят к бактериям.

Бактерии размножаются путем бинарного деления (деления пополам). Так же размножаются хламидии, риккетсии и микоплазмы. Способ размножения вирусов совершенно иной, о нем будет идти речь дальше, в основном в третьей экскурсии. Там же будет указано, что вирусы в отличие от всех других форм жизни не имеют собственных систем, синтезирующих белок.

Вирусы имеют соседей справа, но эти соседи — не их родственники, даже не самые дальние родственники, между ними глубокая пропасть без моста: между вирусами и простейшими бактериями нет переходных, промежуточных форм.

Соседи слева — гигантские молекулы биологических полимеров и надмолекулярные образования. Увы! Их нет в неорганическом мире, потому что синтетические полимеры имеют лишь одно общее с вирусами — они, как и составные части вирусов,— полимеры. Эти полимеры не идут ни в какое сравнение с разнообразием вирусных белков, так как состоят из уныло повторяющихся последовательностей более простых химических соединений, а синтетические полинуклеотиды, или нуклеиновые кислоты,— лишь убогая имитация богатого информацией генетического материала вирусов.

Таким образом, эти сомнительные соседи отделены от вирусов еще более широкой и глубокой пропастью, нежели хламидии или риккетсии.

Ближе к вирусам стоят некоторые составные части клетки, клеточные органеллы — рибосомы и митохондрии.

Рибосомы — своеобразные фабрики белка. Они представляют собой тела эллипсоидной формы, состоящие из двух субъединиц. Каждая субъединица рибосомы

представляет собой нить рибонуклеиновой кислоты, взаимодействующую с молекулами разных рибосомальных белков, число которых превышает три десятка.

Как же эта фабрика работает, как осуществляется синтез белка? Для этого вернемся к строению генетического аппарата клетки. Мы не раз упоминали, что вирусный или клеточный геном — хранитель генетической информации. Главное назначение этой информации — программировать производство белков, которые различны у разных биологических видов, в разных клетках одного и того же индивидуума и внутри каждой клетки.

Можно без преувеличения сказать, что все многообразие форм жизни на земле связано с многообразием белков, так как белки выполняют специфические функции в клетках и организмах: одни обеспечивают существование определенных структур, другие взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами, третьи служат ферментами, четвертые — регуляторами и т. д. Индивидуальность белков зависит от последовательности аминокислот в полипептидной цепи. Замена даже одной из них может резко изменить свойства белка.

Поясним на примерах. Известно, что молекула гемоглобулина — белка, переносящего кислород из легких в клетки всего организма, имеет строго определенный аминокислотный состав и строго определенную последовательность аминокислот в полипептидной цепи. В некоторых районах тропического пояса люди имеют гемоглобулин, в молекулах которого заменена только одна из нескольких сот аминокислот. И вот результат: люди с известной молекулой гемоглобулина страдают тяжелой болезнью — серповидной анемией (малокровием), но зато они малочувствительны к малярии.

Каждый белок индивидуален. Каким же образом обеспечивается их правильный синтез, кто дает приказ на производство белка именно с данной аминокислотной последовательностью?

Эта великая тайна жизни была раскрыта в начале 60-х годов, когда было установлено существование генетического кода, зашифрованного в структуре дезоксирибонуклеиновой кислоты. Каждые три последовательных нуклеотида (триплета) в цепи ДНК оказались кодом для одной из 20 аминокислот. Простой расчет показывает, что из четырех нуклеотидов можно получить 64 разных триплета, а это означает, что каждая из 20 аминокислот име-

ет в среднем три кодирующих ее триплета. И триплеты в молекуле нуклеиновой кислоты, и аминокислотные остатки в молекуле белка расположены линейно, поэтому последовательность триплетов однозначно определяет последовательность аминокислотных остатков и тем самым строение белка.

Чтобы расшифровать генетический код, необходимо, фигурально выражаясь, перенести код с четырехбуквенного нуклеинового алфавита (четыре вида нуклеотидов) на двадцатибуквенный белковый алфавит (20 аминокислот). Реально этот процесс осуществляется на рибосомах (рис. 7).

Предварительно на участке ДНК, на котором закодирована последовательность триплетов, определяющая аминокислотную последовательность в белке (такой участок ДНК называется геном, или цистроном), осуществляется синтез нити РНК, этой комплементарной копии данного участка ДНК, то есть гена. Комплементарное копирование достигается тем, что пары «аденин—урацил»

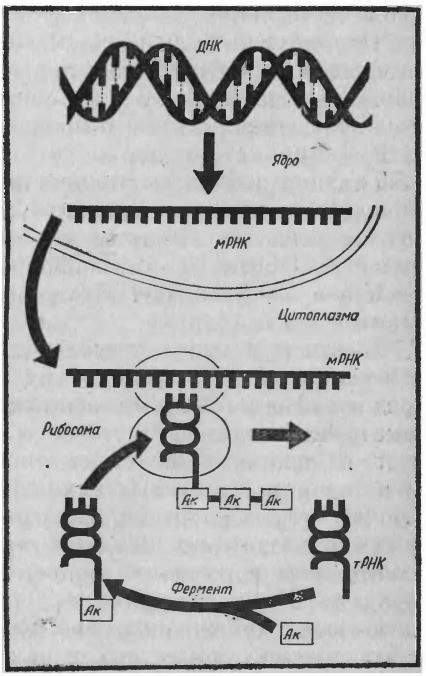


Рис. 7. Схема синтеза белка на рибосомах. Ак — аминокислота, тРНК — транспортная РНК, мРНК — информационная РНК. Рибосомы движутся вдоль цепи информационной РНК, и по мере их движения молекулы тРНК, несущие каждая свою аминокислоту, по очереди прикрепляются к тем участкам, которые в данный момент соединены с рибосомой. Когда молекула тРНК отделяется, уступая следующей, ее аминокислота остается на месте и образует часть растущей полипептидной цепи

и «гуанин—цитозин» взаимодополняют друг друга, а синтез нити РНК, которая называется информационной РНК, или РНК-посредником, обеспечивается специальным ферментом РНК-полимеразой. Информационная РНК переходит, мигрирует из ядра в цитоплазму и прикрепляется своим передним концом к рибосоме.

К месту синтеза белка доставляются аминокислоты. Эту задачу выполняют специальные виды рибонуклеиновых кислот — транспортные РНК со сложной конфигурацией. К одному из концов такой РНК прикреплена аминокислота, точнее, аминокислотный остаток, а середина ее образует петлю, на которой имеется антикодон, то есть триплет, комплементарный триплету, кодирующему определенную аминокислоту. Транспортных РНК существует столько, сколько кодонов (триплетов),— 64, поэтому на каждую аминокислоту в среднем приходится три транспортные РНК.

Когда информационная РНК прикрепится к рибосоме своим кодоном, с ним начинает взаимодействовать та транспортная РНК, которая имеет комплементарный антикодон. Затем происходит передвижение информационной РНК на триплет вперед, и два рядом находящихся аминокислотных остатка соединяются пептидной связью. Освободившаяся от аминокислот транспортная РНК сходит со своего кодона одновременно с продвижением информационной РНК на триплет вперед.

Так шаг за шагом происходит синтез полипептидной цепи. На самом деле этот процесс происходит значительно быстрее, нежели читается эта страница. Для синтеза белка из 150—200 аминокислотных остатков требуется не более 2—3 минут. Это — подлинный вихрь метаболизма!

Как синтез информационной РНК, так и синтез белка требует затраты энергии. Откуда же она берется, кто ее предоставляет? Энергия выделяется в процессе распада некоторых соединений, главным образом аденозинтрифосфата. В клетке существуют специальные образования — митохондрии, в которых осуществляется заготовка соединений, богатых энергией. Митохондрии — сложные образования, представляющие собой полые тела с двухслойными мембранами и имеющие разветвленные внутренние перегородки. В митохондриях осуществляются цепи взаимосвязанных биохимических реакций преимущественно окислительного характера, в результате которых накапли-

вается аденозинтрифосфат и другие соединения, богатые энергией.

Митохондрии имеют свой генетический аппарат в виде двухнитчатой циркулярной ДНК с молекулярной массой около 10 миллионов, собственные рибосомы и часть собственных транспортных РНК. Таким образом, это довольно автономные образования и даже деление их происходит независимо от деления клеток. Многие считают, что митохондрии — потомки бактерий, ставшие симбионтами (сожителями) животных и растительных клеток и потерявшие способность к самостоятельному существованию. В пользу такого предположения свидетельствует большое сходство митохондриальных рибосом с бактериальными рибосомами, гораздо большее, нежели с рибосомами цитоплазмы животных и растительных клеток.

В чем же сходство вирусов с этими двумя клеточными органеллами? Некоторое сходство, несомненно, есть. Так, например, РНК-содержащие вирусы типа вируса табачной мозаики или вируса полиомиелита, как и рибосомы, имеют однонитчатую РНК, заключенную в футляр из белковых молекул. Сходство, правда, небольшое, так как молекулы рибосомальных белков разные, а молекулы вирусных белков, взаимодействующие с вирусной РНК, одинаковы для каждого из названных вирусов. Но самое главное различие в том, что вирус ведет самостоятельную жизнь, тогда как рибосомы всегда остаются частью клетки.

С генетическим материалом митохондрий сходна ДНК аденовирусов: она, как и у митохондрий, двухнитчата и циркулярна. На этом сходство кончается. Строение митохондрий не имеет ничего общего со строением вирусов, даже если они имеют сходную ДНК. К тому же митохондрии в лучшем случае обладают относительной автономией, тогда как вирусы ведут себя как самостоятельные организмы.

Стало быть, клеточные органеллы лишь с большой натяжкой могут быть названы соседями вирусов слева.

Недавно были найдены подлинные соседи слева — ими оказались агенты «медленных» болезней животных и своеобразных болезней растений.

У овец встречается болезнь скрепи — медленно прогрессирующее дегенеративное заболевание центральной нервной системы. Болезнь заразна и эпидемична, и поэтому были предприняты попытки выделить ее возбудителя. Исследователям удалось передать болезнь мышам и

ускорить ее течение, что облегчает изучение возбудителя. И здесь вирусологов подстерегали неожиданности. Вирус оказался чрезвычайно мелким и необычайно устойчивым к воздействиям — кипячению, ультрафиолетовой и ионизирующей радиации. На основании этих опытов одно время предполагали, что агентами скрепи являются... саморепродуцирующиеся мембраны или даже углеводы. Теперь установлено, что в роли агента скрепи выступает низкомолекулярная РНК, тесно связанная с клеточными мембранами.

К сходным результатам пришли исследователи, изучавшие бугорчатую болезнь картофеля. Возбудитель этой заразной болезни оказался настолько мал, что его побоялись назвать вирусом и назвали вироидом. В дальнейшем выяснилось, что вироид — голая РНК, притом довольно малых размеров: молекулярная масса ее не превышает 100—120 тысяч, и по ряду свойств она очень сходна с транспортной РНК клеток. На такой малой молекуле нельзя закодировать даже одного белка, а лишь полипептид из 80 аминокислотных остатков. И тем не менее эта нуклеиновая кислота размножается (непонятно как; возможно, ее размножает клетка) и даже вызывает заболевание растений с четко выраженными признаками.

Но если это так, то что же это за соседи? И не правильнее ли их также назвать вирусами? Неважно, что они (агенты скрепи и вироиды) состоят из одной нуклеиновой кислоты, к тому же небольшой по размерам. Важно, что они размножаются, паразитируют и вызывают заболевания хозяев — словом, ведут себя, как живые организмы. И уж они-то действительно имеют соседей, которые располагаются еще левее: это транспортные РНК, сравнительно простые соединения, их недавно удалось синтезировать химическим путем.

Когда удастся расшифровать химическую структуру вироидов, мы, вероятно, впервые поймем, в чем разница между живым и неживым. Можно, конечно, вироиды объявить не живой, а мертвой самовоспроизводящей материей. Но тогда придется признать, что размножение, наследственность, изменчивость, приспособляемость к меняющимся условиям среды не есть главные признаки жизни.

Тогда что же такое жизнь?

Здесь нет необходимости приводить полную классификацию известных в настоящее время вирусов, число которых приближается к тысяче. Гораздо важнее отметить, что сходные по строению вирусы одних групп — паразиты ограниченного круга хозяев, другие — поражают виды, филогенетически далекие друг от друга.

Ограниченный круг хозяев имеют, к примеру, упомянутые ранее Т-четные фаги со сложным строением. Все они паразитируют на бактериях кишечной группы и могут быть признаны узкоспециализированными формами. К еще более специализированным формам относятся мелкие РНК-содержащие фаги; их молекулярная масса около миллиона. Они поражают только мужские особи кишечной палочки и внедряются через жгутики бактерий. Упоминавшиеся уже онкогенные РНК-содержащие вирусы поражают более широкий круг хозяев — пресмыкающихся, птиц и млекопитающих, однако узкая специализация также очевидна в связи с вертикальной передачей и способностью соединяться с клеточным геномом.

У некоторых вирусов одной и той же группы наблюдается противоположное явление — их хозяева относятся к отдаленным друг от друга филогенетическим группам. Примером могут служить вирусы с двухспиральной РНК, морфологически сходные между собой, поражающие человека (реовирусы) и растения (вирусы раневых опухолей). Вирусы группы оспы обнаружены у человека, млекопитающих, птиц, рыб и насекомых. Еще более разителен пример РНК-содержащих вирусов, имеющих пулеобразное строение: они поражают человека и животных (бешенство, везикулярный стоматит), насекомых (вирус дрозофилы) и многие виды растений (мозаичные болезни картофеля и злаковых).

Эволюция и вирусы

Пути эволюции отдельных групп вирусов далеко не всегда удается проследить. Можно, например, понять эволюцию онкогенных РНК-содержащих вирусов: они изменялись вместе со своими хозяевами — от пресмыкающихся до птиц и млекопитающих. Можно понять даже эволюцию реовирусов, поскольку возможные их предшественники — вирусы раневых опухолей растений — пере-

даются членистоногими, среди которых появились кровососы. Но трудно представить, какие экологические связи могли сделать представителей одной и той же группы пулевидных вирусов возбудителями болезней растений, латентным вирусом насекомого и возбудителем болезней хищников. Можно лишь предполагать, что эта чрезвычайно древняя группа вирусов удивительным образом сохранила свои характерные черты на протяжении миллионов лет эволюции в совершенно разных экологических условиях (в тканях насекомого, листьях растений, центральной нервной системе высших животных).

Генетический материал у вирусов настолько разнообразен, что возникает сомнение в общности их происхождения. Больше того, некоторые исследователи считают, что по этой причине у нас нет оснований объединять их в одну систематическую группу. Однако законы копирования генетического материала одинаковы у всех форм жизни, включая и вирусы: они подчинены железному правилу комплементарности оснований, максимально исключающему ошибки копирования и надежно сохраняющему генетический код.

По поводу происхождения вирусов единой теории пока нет, есть только гипотезы, высказанные разными авторами два десятка лет назад.

Согласно первой из них, вирусы — потомки древних доклеточных форм жизни. Разнообразие генетического вещества у разных групп вирусов в этом случае отражает эволюцию вымерших доклеточных форм жизни от односпиральной РНК до двухспиральной ДНК, а утрата белоксинтезирующих функций есть результат длительной регрессивной (обратной) эволюции, характерной для паразитических форм.

Согласно второй гипотезе, вирусы — потомки бактерий или других одноклеточных организмов, достигшие глубокой степени паразитизма. Утрата ими белоксинтезирующих систем также носит вторичный характер, а разнообразие генетического аппарата отражает также процессы регрессивной эволюции.

Согласно третьей гипотезе, вирусы — это продукт эволюции субклеточных структур: групп генов, митохондрий, рибосом. Различия генетического аппарата их зависят от исходных структур, ставших автономными. Иначе говоря, вирусы вышли из клеток.

Первая гипотеза исходит из признания монофилетиче-

ского (из одного источника) происхождения вирусов: разные их формы ответвились от основного эволюционного ствола прогрессивной эволюции. Третья гипотеза исходит из полифилетического (множественного) происхождения вирусов: разные их группы отражают разнообразие клеточных структур, из которых они развивались. Признание первой гипотезы означает и признание вирусов представителями единой классификационной группы. Признание третьей гипотезы исключает отнесение вирусов к такой единой группе.

Вторая гипотеза допускает оба толкования.

Два десятилетия назад гипотеза клеточного происхождения вирусов казалась наименее убедительной и конкурировали преимущественно две первые гипотезы. Первая и в настоящее время сохраняет свою убедительность. Действительно, если признать, что эволюция шла от односпиральной РНК к двухспиральной ДНК, то многое становится понятным и в эволюции вирусов, и в эволюции последующих клеточных форм жизни.

Природа редко отбрасывает полезные приобретения. С появлением двухспиральной ДНК-структуры, более надежно обеспечивающей сохранность генетического кода, нежели односпиральная РНК, последняя сохранила роль передатчика генетической информации, утратив роль ее хранителя. Таким образом, уже на этой стадии развития органического мира действовал закон рекапитуляции — повторения, или суммирования. Древние формы вирусов с генетическим аппаратом в виде односпиральной РНК сохранили обе функции — и хранения, и передачи генетической информации; две другие группы РНК-содержащих вирусов стали своеобразными ответвлениями.

У вирусов с двухспиральной РНК последняя просто является сохранением репликативной стадии, или формы РНК, которая всегда двухспиральна. В пулеобразных вирусах (а также микровирусах и парамикровирусах), имеющих односпиральную РНК, родительская нить служит хранителем генетической информации, а информационную роль выполняют комплементарные ей копии, которые синтезируются вирионной транскриптазой.

В онкогенных РНК-содержащих вирусах, как об этом будет сказано в экскурсии четвертой, осуществляется транскрипция РНК в ДНК.

Если справедливо предположение об эволюции генетического аппарата от РНК к ДНК, то следует признать

этот способ транскрипции весьма древним. Первоначально обнаруженный у онкогенных вирусов, он затем был найден и в нормальных клетках, в частности в эмбриогенезе. Онкогенные РНК-содержащие вирусы могут быть также связующим звеном с ДНК-содержащими вирусами, которые с той же долей вероятности можно считать происходящими от клеточных форм с генетическим материалом в виде двухспиральной ДНК. Таким образом, гипотеза происхождения вирусов от доклеточных форм жизни не имеет логических противоречий и многие факты в нее укладываются. Тем не менее она остается не больше чем гипотезой и не может претендовать на роль теории.

Гипотеза регрессивной эволюции бактерий и других одноклеточных организмов допускает и моно- и полифилетическое происхождение вирусов. Среди бактерий, грибов, простейших можно найти немало форм, ставших строгими внутриклеточными паразитами. Достаточно назвать группу споровиков среди простейших, риккетсий и хламидий среди бактерий. Среди одноклеточных организмов есть симбиотические формы. Лишайники можно считать примером симбиоза грибов и водорослей. У термитов бактерии-симбионты стали своеобразными органеллами, помогающими усваивать клетчатку.

Мы уже касались предположения, что митохондрии — это продукт эволюции бактерий-симбионтов, поскольку системы синтеза белка в них сходны с системами прокариотов (низших клеток) и отличаются от рибосомальных систем эукариотов (высших клеток). Если исходить из этой гипотезы, то два вида двухспиральной ДНК у вирусов (циркулярная и линейная) происходят от ДНК прокариотов и эукариотов. Более трудно понять происхождение РНК-содержащих вирусов, а также утрату белоксинтезирующих систем. С точки зрения этой гипотезы наиболее сложно объяснить появление разнообразных форм генетического материала, так как требуется признание замены более совершенного генетического аппарата менее совершенным, то есть не просто регрессивной эволюции, а эволюции в противоположном направлении. Это — серьезное логическое противоречие.

Гипотеза клеточного происхождения вирусов в настоящее время представляется гораздо более убедительной, нежели два десятилетия назад. Согласно этой гипотезе, существующие формы вирусов — это дериваты, а попросту порождения составных частей клеток, ставшие авто-

номными системами. Среди составных частей клетки можно найти структуры, нуклеиновые кислоты которых представляют основные типы генетического аппарата вирусов. Двухспиральные линейные ДНК представлены в хромосомах, двухспиральные циркулярные ДНК — в митохондриях, линейные односпиральные РНК — в рибосомах, а также в информационных РНК, а в последнее время в клетках найдены и двухспиральные РНК. Односпиральные линейные и циркулярные ДНК могут иметь вторичное происхождение, и в этом нет логических противоречий, так как известно, что в двухспиральных ДНК лишь одна нить имеет смысловую нагрузку (генетический код), тогда как вторая — комплементарная ей — нить бессмысленна и основное ее назначение — стабилизация генетической структуры. Таким образом, в свете рассматриваемой гипотезы разнообразие форм генетического материала у вирусов получает объяснение.

Одна из трудностей этой гипотезы заключается в том, что она не дает объяснения, каким путем элементы клетки могли стать автономными саморепродуцирующими системами, что нашло отражение в ироническом ее обозначении как гипотезы «взбесившихся генов». Однако это противоречие кажущееся, так как многие клеточные надмолекулярные структуры обладают относительной автономией. Наиболее выражена она у митохондрий, которые имеют собственный генетический аппарат и ферменты его копирования, вследствие чего цикл деления («размножения») митохондрий независим от цикла деления клеток и определяется их метаболическими потребностями. Известной автономностью обладают и гены; заключенная в них генетическая информация реализуется определенным образом. Впрочем, в субклеточных системах возможна репликация фрагментов ядерной ДНК, которая облегчается еще и тем, что ДНК-репликаза синтезируется в цитоплазме, значительные ее количества бывают свободными, не связанными матрицей. Специфичность этого фермента не слишком велика, и поэтому он может копировать матрицы гетерогенного (чужеродного) происхождения, в том числе синтетические дезоксирибополинуклеотиды. Выше указывалось о возможном древнем происхождении фермента обратной транскриптазы. Этот фермент, обнаруженный в нормальных клетках, крайне неспецифичен и может транскрибировать (переписывать) в ДНК почти любые виды РНК, а в отдельных условиях — транскри-

бировать РНК в РНК. Поэтому появление двух групп РНК-содержащих вирусов (парамиксовирусы, онкогенные вирусы) с разными механизмами транскрипции не вносит логических противоречий в рассматриваемую гипотезу.

Эти две группы вирусов, а также некоторые другие (арбовирусы, вирусы герпеса) имеют еще одну важную особенность: формирование их внешних оболочек происходит на клеточных (внутренних и внешних) мембранах, причем у парамиксовирусов и онкогенных вирусов внешняя оболочка образуется из модифицированной клеточной мембраны. Таким образом, специфичен лишь их нуклеотид, а внешние оболочки — это результат кооперативного взаимодействия вируса и клетки. Вероятно, поэтому есть очень большое сходство в образовании клеточных ворсинок и вирионов миксовирусов и парамиксовирусов и столь часто наблюдается образование нитевидных вирионов у этой группы вирусов, в том числе нитевидных образований, не содержащих генетического материала (пустые нити). Такие нити, содержащие в своем составе клеточные и вирусные белки, реагируют с вирусными и клеточными иммунными сыворотками и являются частым продуктом несбалансированных синтезов, характерных для этой группы вирусов.

Гипотеза происхождения вирусов из субклеточных структур не только отрицает возможность выделения вирусов в самостоятельную классификационную группу, но и ставит под сомнение правомочность отнесения их к организмам. С точки зрения этой гипотезы вирусы — своего рода обломки жизни и характерные для организмов функции (саморепродукция, наследственность, изменчивость и приспособляемость к условиям среды) — это лишь результат того, что вирусы — дериваты организмов. А поскольку они в значительной степени автономны, то и законы эволюции органического мира действуют на них.

Существующие взгляды на происхождение и эволюцию вирусов не остаются только общебиологическими построениями. Они имеют прямое отношение к постановке проблемы борьбы с вирусными заболеваниями. Проблема эта имеет тактическое и стратегическое направление, но об этом мы специально расскажем в экскурсии завершающей.

Центральной проблемой биологии была и остается проблема определения сущности жизни.

Почти каждым крупным ученым (от Аристотеля и до наших дней) предложены свои определения жизни.

Здесь уместно упомянуть некоторые из них. Это прежде всего классическое определение Ф. Энгельса: «Жизнь есть способ существования белковых тел». Живое выделяется как особая форма материи с присущими ей структурами и взаимосвязями и специфическим способом существования.

Пожалуй, самое эмоциональное определение жизни в 1949 году дал английский физик В. Паули: «Жизнь — это теплота, изменение и движение — непрестанное метание туда и сюда, химическое соединение и распад, включение и выброс молекул и ионов в водный гель, который мы называем протоплазмой. Жизнь — это порядок и организация, сложность, громоздящаяся на сложность, запутанность, вплетающаяся в запутанность, до тех пор, пока природа систем может быть понятна только посредством грубых абстракций».

Более строго основные признаки жизни при аналитическом подходе (имеется в виду простое перечисление свойств, а не определение сущности явления) сформулированы американским биологом К. Вилли в 1968 году: «Всем живым организмам в большей или меньшей степени свойственны определенные размеры и форма, обмен веществ, подвижность, рост, размножение и приспособляемость».

Согласно мнению американских вирусологов У. Стенли и Э. Вэленса, высказанному ими в 1963 году, сущность жизни заключается, по-видимому, в способности изменять и определенным образом организовывать сравнительно простые единицы в функционально дифференцированные и относительно самостоятельные и независимые «цельности».

Другие предложенные к настоящему времени определения жизни, как правило, рассматривают лишь одно из свойств живой материи, часто чисто внешнее.

Существенным дефектом большинства определений сущности жизни следует считать игнорирование уровня организации объекта. Поэтому применительно к наиболее просто устроенным доклеточным формам, к которым отно-

сятся вирусы, приходится идти на ряд допущений. Например, мы знаем, что вирусы не обладают самостоятельным обменом веществ. Однако обмен веществ и энергии может наблюдаться в ряде систем неорганической природы. С другой стороны, вирусам присущ рекордно высокий уровень размножения, тогда как среди практически всех более сложно организованных форм имеются бесплодные формы, что не дает основания рассматривать их как неживые.

Попытка «примерить» определения жизни к такому сравнительно простому объекту, каким являются вирусы, выявляет противоречивость существующих определений, так как согласно одним из них вирусы «проходят в живые», в соответствии с другими — они нечто полуживое и, наконец, третьи вообще отказывают вирусам в «праве на жизнь».

Такое двусмысленное положение вирусов в стройном здании природы породило самое лаконичное и в свое время в общем-то правильное определение, что «вирусы — это вирусы». В этой шутке, принадлежащей французскому вирусологу А. Львову, заключено честное признание ограниченности знаний о вирусах в самом недалеком прошлом.

Споры о том, являются ли вирусы просто устроенным существом или это лишь очень сложные вещества, возникли почти сразу же после открытия вирусов и не прекращаются до наших дней. Принципиальность этого вопроса вряд ли следует доказывать, так как от решения его зависит не только методология исследований, но и стратегия борьбы с вирусами. По-видимому, наиболее приемлемым следует считать отнесение вирусов к трудно определимой границе жизни, они занимают место где-то посредине между молекулой и живым организмом. Образно говоря, вирусы уже не только вещество, но еще и не совсем существо. Двойственность их природы может рассматриваться как достоинство, так как позволяет использовать для изучения вирусов совокупность методов биологии, химии и физики.

При рассмотрении конкретных биологических объектов определяются два крайних полюса — вирусы и человек. Если уровни организации представить в виде лестницы, то вирусы находятся на низшей ее ступеньке, а человек (как наиболее совершенное и сложное организованное существо) уверенно занимает место на верхней площадке.

Чем больше становится известной природа вирусов, тем больше коррективов, допусков и оговорок приходится вносить в само определение сущности жизни. Естественно, что подобное обстоятельство рождает известный спектицизм. Здесь уместно привести мнение англичанина К. Уддингтона, высказанное им в 1947 году: «...в биологии нет строгого определения понятия жизни. Существование промежуточных форм, таких, например, как вирусы, делает сомнительной плодотворность попыток сформулировать такое понятие...»

Это было сказано более 30 лет назад, когда вирусология еще не стала на рельсы молекулярной биологии и наиболее фундаментальные исследования еще не были проведены.

Теперь мы можем утверждать, что как раз существование вирусов дает в руки современной науки прекрасный инструмент для раскрытия сущности жизни. Не будем вновь касаться дискуссии о том, что такое вирусы — просто организованное существо или сложно устроенное вещество (химическое соединение).

Отметим еще раз, что сама дискуссия, где, и как это ни парадоксально, обе спорящие стороны во многом правы, вызвана двойственностью природы вирусов (структурно вирус — вещество, функционально — существо).

Еще на заре молекулярной биологии американец У. Стенли предложил для вирусов определение, вполне отражающее уровень знаний того времени: «Вирус это нечто... имеющее ничтожно малые размеры, способное проникать в организм и вызывать заболевание почти у всех живых существ и размножающееся только в живых клетках». Как «нечто» вирус долгое время удовлетворял всех.

Из этого определения вытекает, между прочим, одно очень интересное свойство вирусов, на которое раньше не обращали внимания; поскольку вирусы размножаются только в живых клетках, они могут быть индикатором живого. В будущем возможен фантастический эксперимент — наши отдаленные потомки с помощью вирусов смогут дифференцировать живое от неживого на других планетах (?!).

Справедливости ради отметим, что определения вирусов не столь многочисленны и противоречивы, как определения сущности живой материи. Стоит процитировать еще одно из них. В 1957 году А. Львов рассматривал вирусы

как «строго внутриклеточные, потенциально патогенные агенты, обладающие инфекционной фазой, содержащие лишь один тип нуклеиновой кислоты, репродуцирующиеся в форме генетического материала, неспособные к росту и делению».

Это достаточно развернутое определение подчеркивает специфические черты структуры и функции вирусов и позволяет выделить их в самостоятельное царство.

Здесь не рассматривается патогенность вирусов, так как это свойство присуще и другим классам паразитов, но подчеркивается наличие у вирусов внеклеточной инфекционной фазы (вирионов), что обеспечивает им независимое существование и делает их экспериментально познаваемым объектом.

За истекшие 15 лет двойственность природы вирусов получила серьезные подтверждения. С точки зрения структурной наиболее просто устроенные вирусы представлены нуклеопротеидами, то есть совокупностью двух макромолекул — белка и нуклеиновой кислоты. А вироид — это вообще одна настолько небольшая молекула саморепродуцирующейся РНК, содержащая около 80 нуклеотидов, что в ней не может быть закодирована информация даже для одного белка (!).

Химический состав вирусов известен и используется в современной классификации, а их морфологические особенности изучены. Есть основания считать, что в обозримом будущем просто устроенные вирусы будут искусственно синтезированы. Уже теперь возможно воспроизводить в специальных реакциях их геном, а в бесклеточных белоксинтезирующих системах осуществлять синтез вирусных белков.

Иными словами, прогнозируется воспроизведение простейших форм жизни «в пробирке», что практически много сложнее, чем получить «инфекцию в пробирке» или «химиотерапию в пробирке», хотя это вирусологи делают в повседневной лабораторной работе, манипулируя с культурами клеток.

Выше мы оценили вирусы со структурной точки зрения (как вещество), столь же правомочно посмотреть на них с функциональной (как на существо).

Подобно другим живым организмам, вирусам свойственны (вспомним определение К. Вилли): а) размеры и форма (морфология), отличающиеся большим постоянством; б) размножение, правда, совсем особое по своей

сути (об этом мы расскажем дальше); в) приспособляемость, или изменчивость.

Но у вирусов отсутствует обмен веществ, подвижность и раздражимость.

Таким образом, получается соотношение три к трем, то есть по шахматной терминологии — ничья.

Если и дальше заниматься арифметическими подсчетами, то можно дойти до таких малопонятных определений вирусов: «вещества с признаками существ» или, что не лучше, «существа с признаками веществ».

Наиболее важное функциональное свойство вирусов — это их способность вызывать спектр заболеваний, однако для воспроизведения патогенных потенций вирусов в эксперименте требуется соблюдение ряда условий, а создавать их весьма сложно. Структурная же организация вирусов, как мы уже говорили, оказалась настолько стабильной характеристикой, что была положена в основу их классификации.

Изучение организации вирусов показывает, что сочетание в них двух основных компонентов (белки и нуклеиновые кислоты), каждый из которых в отдельности нельзя признать живым, приводит в конечном счете к образованию элементарной частицы — вириона.

Клетки долгое время рассматривались как субстрат (живая питательная среда) для воспроизведения вирусов. Упрощенно их сравнивали с хорошо оборудованными и оснащенными биохимическими лабораториями, в которых осуществляются сложные реакции, необходимые для воспроизведения вирусов.

Это упрощение было целесообразно, так как оно позволяло вычленить и изучить наиболее сложные процессы размножения вирусов.

Однако рассуждения на тему: «Вирус — это вирус, клетка — это клетка; они встречаются, общаются и расходятся, занимая в хозяйстве природы каждый свое готовое место...» — малополезны, когда мы сталкиваемся с ситуацией, где вирусы и клетки выступают как некое целое. А подобные ситуации часто наблюдаются при хронических инфекциях, а также лежат в основе вирусного канцерогенеза.

Вирусы в этом случае могут рассматриваться как составная часть хромосомного аппарата клеток, что делает их в руках экспериментатора, по словам Стенли и Вэленса, «тайными агентами, способными выведать у клетки те

сведения, которые она обычно скрывает от назойливого любопытства человека».

Нет сомнения, что вирусы еще долго будут играть роль модели при изучении сущности жизни, так как именно с них начинается на наших глазах обратный путь от молекул к организму. Мы имеем в виду работу по генной инженерии и изучению связи между структурой и функцией.

ВЫДЕРЖКИ ИЗ ОБВИНИТЕЛЬНОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ

(Неполный список черных дел)

Блаженство тела состоит в здоровье, блаженство ума — в знании.

Фалес

Если бы мы попытались перечислить только названия болезней, вызываемых вирусами, то это заняло бы приблизительно 6 страниц нашей книги. Мы считаем, что подобный перечень вряд ли уместен, так как наша задача не пугать читателя, а спокойно рассказать о единоборстве, которое ведут ученые с вирусами — невидимыми и грозными врагами человечества.

К настоящему времени открыто около 500 болезнетворных вирусов, число которых постепенно продолжает нарастать за счет обнаружения все новых разновидностей. Среди «особо опасных преступников» — вирусы оспы, гриппа, бешенства, желтой лихорадки, полиомиелита, энцефалита, ящура, гепатита и др.

В таблице представлены накопленные к настоящему времени сведения об основных свойствах болезнетворных вирусов человека и животных. Обратите внимание на диапазон заболеваний, которые вызываются вирусами. Здесь и так называемые генерализованные инфекции (грипп, корь, бешенство, свинка, оспа и др.), и местные поражения кожи и слизистых (герпес, папилломы), и болезни отдельных органов и тканей (миокардиты, гепатиты, лейкозы), и, наконец, злокачественные образования (рак, саркома). Такой универсализм в сочетании с узкой специализацией характерен для вирусов. Использование антибиотиков резко снизило, с одной стороны, число заболеваний, вызываемых бактериями и простейшими, но, с другой — оно привело к тому, что удельный вес вирусных инфекций в патологии человека начал возрастать.

Болезнетворные свойства вирусов человека и животных

Название семейств и родов	Число представителей	Вызываемые заболевания
1	2	3
Вирус оспы	Более 300	Оспа человека и животных, стоматиты и др.
Вирусы герпеса	30	Герпес, болезни глаз (кератиты, кератоконъюнктивиты), болезни кожи, возможно опухоли
Аденовирусы	55	Респираторные инфекции, опухоли животных
Папилломавирусы	12	Папилломы (бородавки) человека и животных
Полиомавирусы	4	Энцефалопатии человека, опухоли обезьян и кроликов
Реовирусы	16	Поражение верхних дыхательных путей, диаррея телят и мышей, геморрагическая болезнь оленей и др.
Лейковирусы	Около 60	Злокачественные новообразования (рак, саркома), болезни крови (лейкозы у человека и животных)
Парамиксовирусы	9	Корь, свинка, поражение верхних дыхательных путей и др.
Ортомиксовирусы	5	Грипп у человека и животных, чума кур
Рабдовирусы	8	Бешенство, везикулярный стоматит и др.
Флавирусы	Более 20	Желтая лихорадка, японский и клещевой энцефалит, денге, краснуха и др.
Альфавирусы	Более 10	Энцефаломиелиты лошадей
Риновирусы	7	Ящур, «малые» респираторные инфекции
Энтеровирусы	6	Полиомиелит, параличи, менингит, лихорадочные заболевания, миокардиты и др.
Неклассифицированные	?	Инфекционный гепатит (болезнь Боткина), сывороточный гепатит, «медленные вирусы»

Наибольшее распространение получили грипп, корь, инфекционный гепатит, тропические лихорадки, герпес и другие вирусные болезни. Считается, что при средней продолжительности жизни человека в 70 лет из них 7 лет он болеет вирусными заболеваниями.

Из великого множества вирусных инфекций мы выберем самые «знаменитые» и опасные. Начнем с гриппа.

Четверть века назад... Четверть века назад перед вирусологией были поставлены важные задачи — борьба с гриппом и борьба с полиомиелитом.

Грипп — не столь уж тяжелая болезнь, однако им болеют ежегодно многие миллионы людей, а периодически возникающие пандемии (повальные эпидемии) уносят немало жизней.

В 1886 и 1887 годах грипп был зарегистрирован в России; летом 1889 года в Бухаре активность возбудителя, по-видимому, повысилась, а позднее в том же году инфекция распространилась и на другие районы России и в Западную Европу. Так началась пандемия гриппа 1889—1890 годов. При второй и третьей волнах число смертельных случаев прогрессивно увеличивалось. Самая зловещая черта этой эпидемии состояла в том, что она, по-видимому, дала толчок какому-то процессу, и теперь грипп с нами не расстается, или, как писал эпидемиолог Гринвуд, «нам никак не удается вернуть утраченные позиции».

В 1918 году, после окончания первой мировой войны, разразилась небывалая пандемия гриппа, получившего название «испанки».

Американские солдаты, сходившие с кораблей в Бостоне, чтобы направиться на европейский театр военных действий первой мировой войны, стали первой жертвой «испанки». «Гелиотропный цианоз», своеобразная синюшность, обусловленная резким кислородным голоданием, вызванным злокачественно протекающим воспалением легких, стал как бы лицом этой грандиозной гриппозной пандемии.

За полтора года пандемия охватила все страны, поразив более миллиарда человек. Болезнь протекала исключительно тяжело: около 25 миллионов человек погибло — больше, чем от ранений на всех фронтах первой мировой войны за четыре года.

К тому, что происходило в то страшное время, приложимы слова поэта:

...Поминутно мертвых носят,
И стенания живых
Боязливо бога просят
Успокоить души их!
Поминутно места надо,

И могилы меж собой,
Как испуганное стадо,
Жмутся тесной чередой.

А. С. Пушкин.

Пир во время чумы

Никогда позже грипп не вызывал столь высокой смертности: смертность была невысокой во время всех последующих эпидемий и пандемий, хотя...

Да, здесь мы должны сделать оговорку: хотя процент смертных случаев при гриппе невысок, массовость заболевания приводит к тому, что во время каждой большой эпидемии гриппа от него умирают тысячи больных, особенно стариков и детей. Но это еще не все. Отмечено, что во время эпидемий резко повышается смертность от болезней легких, сердца и сосудов. Без гриппа эти люди могли бы прожить еще несколько лет, но заболевание гриппом нарушает нестойкое равновесие и обрывает тонкую ниточку жизни.

Стало быть, грипп не столь уж безопасен, каким он кажется большинству.

Но вернемся к концу 40-х и началу 50-х годов, когда перед вирусологами сама жизнь поставила задачи борьбы с гриппом и полиомиелитом. О гриппе мы уже говорили. Теперь несколько слов о полиомиелите — инфекционном детском параличе. Это тяжелое заболевание, от которого умирали тысячи детей, а десятки тысяч оставались калеками на всю жизнь (в следующем разделе «подвиги» этого вируса описаны подробнее). Сравнительно редкое прежде заболевание, полиомиелит начал вызывать серьезную тревогу, так как заболеваемость им медленно, но неуклонно возрастала.

Вспоминаются научные дискуссии тех лет. Победа над гриппом казалась тогда близкой. Были открыты два основных возбудителя гриппа — вирусы типа А и В. В опытах на животных была показана возможность вызвать невосприимчивость к гриппу — иммунитет, наконец была разработана технология получения больших количеств вируса, в том числе ослабленного, не способного вызвать заболевание, но стимулирующего развитие иммунитета. Оставалось сделать немного — испытать гриппозные вакцины на людях и приступить к массовой вакцинации.

Гораздо менее обнадеживающей была ситуация с полиомиелитом. Три вируса, вызывающие эту болезнь, с трудом удалось выделить, заражая мозг обезьян. Концентрация

вируса в мозговой ткани обезьян была очень мала, методы обезвреживания вируса, защищенного мозговой тканью, были крайне ненадежны. Так что перспектива получения инактивированной (убитой) вакцины против полиомиелита была весьма туманной.

Через пять лет положение резко изменилось. В начале 50-х годов американский вирусолог Дж. Эндерс разработал метод выращивания клеток животных и человека вне организма в виде сплошного слоя в среде, содержащей аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины. В таких культурах клеток, как показали его исследования, можно успешно выращивать вирусы полиомиелита. Вызываемое ими разрушение клеток можно видеть в простом микроскопе или даже невооруженным глазом, когда повреждены десятки и сотни находящихся рядом клеток.

Если покрыть клетки тонким слоем агара, то пораженные очаги будут выглядеть в виде пятен, более прозрачных, нежели слой неповрежденных клеток. Вирусологи получили в свои руки простой и надежный метод накопления вирусов и количественного их определения (титрования).

Но это было не все: метод негативных пятен (он по недоразумению назван у нас методом бляшек) был использован для получения чистых линий вируса, так как даже одна жизнеспособная вирусная частица может вызвать при размножении в восприимчивых клетках появление негативного пятна (бляшки). Воздействуя на вирусную популяцию разными средствами, можно получить варианты с пониженной вирулентностью, а метод бляшек позволяет отобрать чистые линии таких ослабленных вирусов, не загрязненные опасной примесью вирулентных болезнетворных частиц.

Открытие Дж. Эндерса (за которое он заслуженно получил Нобелевскую премию) было незамедлительно использовано в двух направлениях.

Дж. Солк разработал метод приготовления инактивированной вакцины полиомиелита, а А. Себин вскоре получил ослабленные вирусы полиомиелита, которые нашли применение в производстве живой полиомиелитной вакцины.

Началась эпопея борьбы с полиомиелитом, которая менее чем за десятилетие завершилась его ликвидацией

в СССР, США и многих других странах... Мы еще вернемся к проблеме борьбы с полиомиелитом.

А как же обстояло в это время с гриппом? Плохо, очень плохо...

Массовые прививки против гриппа, которые широко проводились в 50-е годы у нас и в США, привели к неожиданно скромным и даже более чем скромным результатам. В США применялись инактивированные вакцины, приготовленные из свежих вирусов гриппа. В СССР нашли применение живые вакцины, приготовленные из аттенуированных вирусов гриппа. Эффективность тех и других вакцин была одинакова: они снижали заболеваемость в полтора-два раза, а в отдельные годы эффективность их была нулевой.

Итак, борьба с гриппом ведется уже много лет, и широчайшим фронтом, но как бы то ни было он ежегодно собирает с человечества дань многих и многих миллионов рабочих дней, потерянных в результате болезни. Множество секретов микроскопического врага находится пока за семью печатями для современной медицинской науки.

В 1969 — начале 1970 года грипп всех трех видов A, B и C свирепствовал на земном шаре, забираясь вместе с космонавтами даже в космическое пространство. В одной только Англии в течение новогодней недели от гриппа погибло более трех тысяч человек.

А может быть, это не грипп? Попытки выделить вирусы гриппа далеко не всегда были удачными. Особенно в периоды, когда не было больших эпидемий. Вирус гриппа как бы исчезал и снова появлялся во время эпидемий.

Исследователи и раньше догадывались, что под диагнозом гриппа скрываются сходные заболевания, вызываемые разными вирусами, а некоторые из них даже не вирусами, а бактериями. Однако вирусы эти не удавалось открыть, так как лабораторные животные и куриные эмбрионы не являются средой, благоприятной для их размножения.

Метод клеточных культур и тканей, разработанный Дж. Эндерсом, пришелся по душе вирусологам. Вместо того чтобы экспериментировать на самих животных, выбор которых был ограничен, вирусолог мог теперь культивировать любую ткань любого животного, и прежде всего ткань человека — эту естественную среду обитания для поражающих его вирусов.

Результаты не замедлили сказаться: пошли открытия новых вирусов.

Оказалось, что заболевания, сходные по течению с гриппом, вызывают парамиксовирусы (парагриппозные вирусы), аденовирусы, реовирусы, риновирусы, коронавирусы. В настоящее время известно более 100 вирусов, выделенных от больных гриппоподобными заболеваниями. Совершенно ясно, что никакая вакцина, сделанная из вирусов гриппа, не сможет предупредить заболеваний, вызванных сотней негриппозных вирусов!..

Правда, не все эти вирусы одинаково часто бывают виновниками гриппоподобных заболеваний. Одни из них вызывают преимущественно эпидемические вспышки, другие — единичные заболевания; одни поражают чаще всего детей, другие — также и взрослых.

Если сложить все эти заболевания (а они наблюдаются круглый год, особенно в холодное время), то в сумме они превысят заболеваемость гриппом — особенно в годы, когда большие эпидемии или пандемии последнего не регистрируются.

И все же грипп остается «королем» эпидемий. Ни одна болезнь не может за короткое время охватить сотни миллионов людей, а гриппом во время пандемий заболевало более миллиарда человек!.. Так было не только в памятную пандемию 1918 года, но и сравнительно недавно — в 1957 году, когда разразилась пандемия «азиатского» гриппа, и в 1968 году, когда появился «гонконгский» грипп.

Эпидемии гриппа периодически распространяются по земному шару, приковывая миллионы людей к постели, причиняя громадный экономический ущерб и унося сотни тысяч человеческих жизней. Но откуда появляется вирус, вызывающий эпидемию? Где он прячется между эпидемическими вспышками? Почему вирус гриппа каждый раз не похож на своего предшественника, каждый раз столь отличен от него, что свободно обходит барьер иммунологической защиты человека? Все эти вопросы еще не сняты с «повестки дня» современной вирусологии.

Откуда и как появляется грипп? «Азиатский» и «гонконгский»... Случайно ли каждый раз речь идет об Азиатском материке? Ведь даже истоки «испанского» гриппа историки находят в Азии, где-то в Китае, откуда он пришел в Европу.

Эпидемии и пандемии гриппа в самом деле часто на-

чинаются на Азиатском материке. Сейчас, когда существует сеть вирусологических лабораторий, поддерживаемых Всемирной организацией здравоохранения, истоки эпидемий гриппа удается проследить. Оказалось, например, что две последние большие эпидемии гриппа начались в Восточной Азии, опять в районе Китая. Отсюда и название — «азиатский», «гонконгский».

Почему же эти районы земного шара являются источниками пандемий и эпидемий гриппа? На этот вопрос ответить трудно, и можно пока лишь высказать предположение. В частности, такое: в Восточной Азии на ограниченной территории живет более трети человечества, а значит, и эпидемический процесс — циркуляция вирусов гриппа — здесь более интенсивный, чем где-либо в другом месте земного шара. Кроме того... Впрочем, о гриппе животных мы поговорим позже, а сейчас расскажем, как появляется грипп.

Меняя одежду... Каждая новая большая эпидемия гриппа вызывается новым его вариантом, новой разновидностью. Каждый раз вирус гриппа выступает в новой одежде. И это не образное сравнение, не метафора. Действительно, вирусы гриппа часто меняют свою одежду.

На рис. 5 показано строение вируса гриппа. Внутренняя его часть — нуклеотид, или сердцевина, содержит вирусную нуклеиновую кислоту (РНК), заключенную в белковый футляр. Это наиболее стабильная часть вируса, так как белковый футляр одинаков у всех вирусов гриппа одного и того же типа, а этих типов всего три: соответственно вирусы гриппа типа **А, В** и **С**.

Из них лишь грипп типа **А** — виновник пандемий. Грипп **В** встречается реже и вызывает более ограниченные эпидемии, а грипп **С** — еще реже.

Итак, «главный герой» — грипп типа А. Насколько стабилен и неизменен его нуклеотид, настолько изменчивы внешние оболочки, содержащие два главных белка вируса гриппа — гемагглютинин (ГА) и нейраминидазу (НА).

Когда вирус гриппа стали выращивать на оболочках куриного зародыша, исследователи обратили внимание на такой факт. Если заразить куриный эмбрион вирусом гриппа, а затем через сутки или двое вскрыть его и поранить сосуд, то выходящая из него кровь быстро образует кучки склеенных (агглютинированных) эритроцитов. Оказывается, их склеивает вирус гриппа.

Открытая реакция гемагглютинации стала одним из наиболее простых и надежных методов обнаружения и количественной оценки (титрования) вируса гриппа. В дальнейшем было выяснено, что гемагглютинация вызывается особым белком, составляющим наружную оболочку («одежду») вируса гриппа.

Другим наружным белком служит фермент нейраминидаза. Он разрыхляет и частично разрушает оболочку клетки, облегчая проникновение вируса гриппа внутрь клетки.

Именно с этими двумя поверхностными белками — ГА и НА — встречается организм человека, зараженный гриппом. Против них в первую очередь вырабатывается защита — противогриппозный иммунитет. Он довольно стоек, даже очень стоек — иммунитет против ГА и НА. Он бы мог защитить человека от заболеваний гриппом на многие годы. Мог бы, если бы эти белки были так же стабильны, как белки нуклеотида...

На самом деле они изменяются, и довольно быстрыми темпами. В 1933 году был открыт вирус гриппа, выделенные тогда вирусы до сих пор сохраняются в лабораториях и их обозначают символом H_0N_1 (гемагглютинин H_0, нейраминидаза N_1).

Вскоре после войны, в 1947 году, началась большая эпидемия гриппа, распространившаяся по земному шару. Она была вызвана новым вариантом вируса — H_1N_1: нейраминидаза осталась прежней, а гемагглютинин изменился. Памятная пандемия «азиатского» гриппа в 1957 году была вызвана вирусом, в котором были сменены оба белка — его формула H_2N_2. И наконец, вирус Гонконга, вызвавший новую пандемию, сменил свой гемагглютинин, его формула H_3N_2.

Откуда берутся новые белки? На этот вопрос пока нет ответа. Но есть предположение.

Вирусы гриппа поражают не только человека, но и животных. Да и открыты они были сначала у животных, а уж потом у человека. За год до открытия вируса гриппа человека (в 1933 году) от свиней был выделен (в 1932 году) сходный вирус. А еще раньше, в 1902 году, был выделен от кур вирус, вызывающий тяжелые эпидемии в птичьем поголовье с высоким падежом птицы. Болезнь тогда назвали «куриной чумой», хотя чума кур не имеет ничего общего с чумой грызунов и людей, вызываемой бактериями. Лишь несколько десятилетий спустя было показано, что куриная чума вызывается вирусом гриппа.

А затем стали открывать все новые и новые вирусы гриппа животных. Их выделили от свиней, лошадей, собак, телят и многих видов домашних и диких птиц.

Когда были детально изучены эти вирусы, то оказалось, что существует восемь видов нейраминидазы и более двух десятков видов гемагглютинина. И вот что интересно: обе нейраминидазы вирусов гриппа человека и обе нейраминидазы вирусов гриппа лошадей были обнаружены у птиц, а кроме них — еще четыре нейраминидазы птичьих вирусов гриппа, которые у других животных пока не обнаружены.

Но это еще не все. В отличие от нейраминидазы гемагглютинины вирусов гриппа разных животных разные: у вирусов гриппа человека свои гемагглютинины, у вирусов гриппа лошадей — свои, у птичьих вирусов — свои. Но есть и исключения, притом весьма знаменательные. Вирус гонконгского гриппа появился в 1968 году. А за 4—5 лет до его появления были открыты два вируса гриппа — утиного на Украине и лошадиного в США, у которых гемагглютинин (это было установлено позже) сходен с гемагглютинином гонконгского вируса. Итак, вирус человека появился в 1968 году, а его белки уже были и ранее у сходных вирусов животных...

Таким образом, стали накапливаться данные о циркуляции вирусов гриппа среди людей и животных.

Особенно «урожайными» были 70-е годы. Советские исследователи выделили вирусы гриппа Гонконга от кур, собак, телят, а американцы — от свиней. Еще в начале этого столетия многие исследователи сделали наблюдение: почти каждая эпидемия гриппа среди людей сопровождается эпизоотией сходных заболеваний среди животных. Теперь это наблюдение подтвердилось точными данными — выделением вируса гриппа человека от животных.

Но противоположные данные пока скудны, никто еще не наблюдал, чтобы вирус гриппа животных вызывал эпидемию среди людей. Даже в опытах с искусственным заражением оказалось, что далеко не все вирусы гриппа животных способны вызвать заболевания у людей.

Впрочем, и эти данные уже устарели. В 1975 году в Форте Диксе (США) среди новобранцев возникла эпидемическая вспышка гриппа. Один новобранец умер. От него и других больных были выделены вирусы гриппа, которые оказались... вирусами, поражающими свиней и циркулировавшими в это время в США. Отдельные

случаи заражения людей этим гриппом наблюдались ранее, но на этот раз была целая вспышка, охватившая несколько сот человек. Итак, грипп животных иногда передается людям.

Все оказалось очень, очень непросто... И только тонкие исследования по генетике вирусов гриппа бросили луч надежды разгадать сложную загадку, придуманную природой.

Необычная генетика. Можно ли скрещивать вирусы? Сама постановка вопроса может показаться нелепой. Ведь вирусы бесполы, а размножение их мало похоже на размножение высших организмов. Правда, мы уже рассказывали, что вирусную нуклеиновую кислоту можно одеть белком другого вируса. Но это не скрещивание, так как в потомстве всегда будет тот вирус, чья нуклеиновая кислота вошла в состав гибрида. И действительно, многочисленные опыты показали, что большинство вирусов не скрещиваются.

Большинство, но не все. И как раз вирусы гриппа скрещиваются очень легко. Если, скажем, ввести в клетки два вируса гриппа с разными гемагглютининами и нейраминидазами, например H_0N_1 (первый вирус человека, который был открыт в 1933 году) и H_3N_2 (вирус Гонконга), то в потомстве мы получим не только исходные вирусы (H_0N_1 и H_3N_2), но и два возможных рекомбинанта — H_0N_2 и H_3N_1. В первом случае рекомбинант имеет гемагглютинин старого вируса и нейраминидазу вируса Гонконга, а во втором — гемагглютинин вируса Гонконга и нейраминидазу старого вируса.

Долгое время эта особенность вирусов гриппа оставалась непонятной, но затем выяснилось, что геном (РНК) вирусов гриппа состоит из кусков. Их семь, и каждый из них несет определенный ген, на котором закодирован синтез белка. Оказалось далее, что фрагменты (куски) генома вирусов гриппа можно переставлять, важно лишь, чтобы их был полный набор. Этим и объясняется возможность обмена генами нейраминидазы и гемагглютинина и получение всех возможных их комбинаций при заражении клеток разными вирусами.

Отсюда и появилось предположение, что новые вирусы гриппа человека — рекомбинанты и что рекомбинация происходит где-то вне человеческого организма, в природе, куда «ныряет» вирус и возвращается «переодетый» в новую одежду. В новой одежде, а точнее, с новыми генами,

вирус легко распространяется в виде эпидемий и пандемий, так как новые белки позволяют ему преодолеть иммунитет у людей, сложившийся после минувшей эпидемии, и снова начать путешествие по странам и материкам...

Когда же будет побежден грипп? Вероятно, не скоро. Тогда, когда мы научимся следить за его «переодеванием», научимся предсказывать, куда он «ныряет» и в каком виде «выныривает», когда мы научимся встречать перевоплощенный вирус со всем арсеналом возможных средств против его новой одежды. Но...

В 1977 году А-прим (H_1N_1), исчезнувший в 1957 году, вновь появился после 20-летнего отсутствия. До сих пор неясно, почему он исчез 20 лет назад и почему вновь появился. Можно предполагать, что либо он сохранился, циркулируя среди животных, либо появился в результате процессов рекомбинации (скрещивания). Важно, однако, другое: повторное появление сходного вируса указывает на то, что число эпидемически опасных для человека вирусов ограничено. А значит, и цель — получение универсальной вакцины против гриппа — может оказаться более близкой.

А пока впереди большая и кропотливая работа, сходная с работой криминалиста, терпеливо преследующего преступника, оставляющего малозаметные и не всегда понятные следы своих перевоплощений.

Всемирные убийцы
(Штрихи к «портретам» некоторых наиболее опасных преступников)

В списках всемирных убийц наряду с холерой, чумой, тифами далеко не последнее место занимают вирусные заразные болезни.

Средства борьбы с бактериальными инфекциями благодаря появлению антибиотиков и сульфаниламидных препаратов пополнились мощным наступательным оружием, которое, к сожалению, до сих пор отсутствует, когда речь идет о вирусах.

Вместе с тем роль вирусных болезней и инфекционной патологии человека по мере ограничения и ликвидации бактериальных и протозойных (вызываемых простейшими) инфекций постоянно возрастает. На сегодня подавляющий

процент инфекционной патологии человека приходится именно на долю вирусных инфекций. Одна только корь дает 23%.

Четыре из девяти инфекций, попадающих под действие международных санитарных правил или подлежащих международному надзору,— вирусные инфекции: желтая лихорадка, оспа, грипп, полиомиелит. И хотя эпидемиологические и карантинные мероприятия, вакцины и сыворотки позволили добиться существенных успехов, решительные сражения в борьбе с болезнетворными вирусами еще впереди.

Оспа. Возбудитель оспы — крупный, сложно устроенный вирус. Он содержит ДНК; электронная микроскопия показала, что он имеет форму кирпича с закругленными краями и округлым возвышением в центре. Вирус размножается в цитоплазме клеток, где образует характерные включения.

Оспа — одно из древнейших заболеваний. Описание оспы нашли в египетском папирусе Аменофиса I, составленном за 4000 лет до нашей эры. Оспенные поражения сохранились на коже мумии, захороненной в Египте за 3000 лет до нашей эры. Упоминание оспы, которую китайцы называли «ядом из материнской груди», содержится в древнейшем китайском источнике — трактате «Чеу-Чиуфа» (1120 год до нашей эры). Первое классическое описание оспы дал арабский врач Разес (IX век нашей эры). А вот у Гиппократа ни описания оспы, ни упоминаний о ней мы не находим.

Оспа в прошлом была самым распространенным и самым опасным заболеванием. Ее опустошительная сила не уступала силе чумы. Столетиями она властвовала в Азии, откуда в VI веке нашей эры сарацины завезли ее в Европу.

Своей наибольшей убийственной силы оспа достигла в XVI—XVIII веках нашей эры, когда каждый третий ребенок умирал от нее. Оспа была широко распространена в войсках, перемещалась с ними и страшнее армий опустошала целые области. В отдельные годы в Европе заболевало оспой 12 миллионов человек, из которых 1,5 миллиона погибало.

Исторические хроники свидетельствуют: заболевших оспой насильно сажали на телеги и отправляли в изолированные бараки, где большинство их — из-за болезни, грязи, скученности, недостатка пищи — умирало. Те, кому

удавалось выздороветь, могли покинуть барак, только подвергнувшись «миазматической дезинфекции».

Сбросив всю одежду, выздоровевшие вначале обмывали все тело «водой жизни» (кипяченая вода с солью, гвоздикой и ирисовым порошком). Затем проходили в герметически закрытое помещение, где стояли три жаровни, наполненные раскаленными углями. Когда люди входили туда, смотритель бросал на угли несколько горстей «сладкого благовония», которое представляло собой смесь, состоявшую из равных частей серы, смолы, мирры, ладана, кирказона и мяты. Люди должны были вдыхать душистый дым в течение времени, необходимого для прочтения молитв «Отче наш» и «Богородицы». Однако из-за серы и эти несколько минут тянулись мучительно долго; большую часть находившихся в комнате со «сладким благовонием» вытаскивали наружу полузадохшимися.

Особенно свирепствовала оспа на территориях, куда она проникала впервые. В XVI веке конкистадоры завезли ее в Америку, и похоже, что использовали ее там в качестве бактериологического оружия. По крайней мере сохранились сведения о том, что индейцам преднамеренно оставляли одеяла от больных оспой или развешивали на деревьях рубахи, пропитанные оспенным гноем.

В 1576 году только в Перу погибло свыше 2 миллионов человек, страна была опустошена. Во время завоевания Мексики в 1520 году погибло от оспы 3,5 миллиона человек. Вымирали целые племена. Очевидцы писали, что «несметное количество... трупов валялось в лесах».

Первое упоминание об оспе в России относится к XV веку. В 1610 году инфекция была занесена в Сибирь, где вымерла треть местного населения. Люди бежали в леса, тундру, горы, выставляли идолов, выжигали на лице шрамы наподобие оспин, чтобы обмануть злого духа,— все было напрасно, ничто не могло остановить безжалостного убийцу.

Сто лет назад журнал «Вестник Европы» писал: «Оспа, до сих пор более всего заметная в Петербурге, где ею переболело до 4,5 тысячи человек, из которых третья часть умерла, в последнее время была особенно сильна в некоторых местностях царства Польского: так, в Яновском уезде Люблянской губернии в течение первой недели декабря заболело 847 человек».

В средние века от 50 до 75% слепых потеряли зрение в результате перенесенной оспы.

Тысячелетиями человечество было, по существу, бессильно перед лицом эпидемий. Широко распространенный в средние века рецепт при возникновении оспы рекомендовал: «cito, longe, tarde» — «быстро, далеко, долго», предписывая убираться побыстрее, подальше и подольше не возвращаться. Другое правило не менее красноречиво: «fuge, recede, redi» — «беги, отступай, уходи».

Однако попытки защититься от оспы столь же древни, как и сама оспа. В основе их лежало наблюдение: люди, однажды переболевшие оспой, больше не болели, и оспа может протекать очень легко — «хорошая оспа». Как заметил Н. Ф. Гамалея, «не видя пользы от стремления избежать заразы, человечество перешло к противоположной крайности и стало искать ее».

Примеры вариоляции — искусственного заражения легкой формой оспы — мы находим у многих народов. Брахманы Древней Индии за 1000 лет до нашей эры одевали детей в рубашки, смоченные гноем легко больного оспой. Часто использовали метод, получивший впоследствии название шотландского, когда смоченной оспенным материалом ниткой из шерсти перевязывали слегка оцарапанную руку ребенка.

Китайцы через бамбуковые трубочки вдували в носовые ходы детям измельченные оспенные корочки, арабы давали детям пить настой оспенных корочек, славяне стегали прутьями, смоченными в оспенном гное, на Кавказе прививки делали иголками, смоченными выделениями пустул.

Торговцы живым товаром в Оттоманской империи покупали в гарем только девочек, у которых имелся на руке или бедре шрамик от прививки оспы, гарантирующий сохранение красоты их лица.

В Константинополе в средние века сложилась своеобразная школа вариоляции. Отсюда сведения различными путями поступали в Европу. Романтическая история связана с именем леди Монтегю, жены английского посла в Константинополе. В 1717 году она привила оспу своему сыну, а через 4 года — дочери. По ее рекомендации было проведено испытание, когда в 1721 году оспа была благополучно привита шести преступникам в Ньюгетской тюрьме.

Издавна существовал в Европе оригинальный способ защиты от оспы — покупка оспы. Здоровый ребенок давал больному оспой несколько монет со словами: «Я покупаю

у тебя оспу». В Аравии также покупали оспу, причем платили за нее не деньгами, а изюмом или винными ягодами. Уличные глашатаи извещали о продаже оспы.

Этот метод «проб и ошибок» давал иногда положительные результаты, но в целом самодеятельная вариоляция была крайне рискованным делом, в большом проценте случаев она приводила к трагическому исходу. Поэтому, несмотря на очевидную пользу вариоляции, в конце XVIII века популярность прививок легкой формы оспы упала почти до нуля.

Знали о вариоляции и на Руси, но здесь она широкого распространения не получила, хотя опыт ее удачного применения был: в 1796 году императрице Екатерине и ее сыну была привита «хорошая оспа» (обычная оспа, которая, как уже говорилось, при определенных условиях протекает легко). К прививке «хорошей оспы» постоянно прибегали в воспитательных домах для подкидышей. Есть сведения, что Радищев в сибирской ссылке практиковал вариоляцию.

История борьбы с оспой вступила в новую эру весной 1796 года, когда английский врач Эдвард Дженнер привил в Беркли «коровью» оспу мальчику Джемсу Фиппсу. Не без борьбы вакцинация (от vacca — корова) быстро распространилась по всему свету.

«Открытие Дженнера,— пишут авторы книги «История эпидемий в России» К. Васильев и А. Сегал,— произвело большое впечатление, и вокруг него разгорелся горячий спор. Противники не скупились на всевозможные фантастические предположения и домыслы. Так, например, известный лондонский врач Мозель писал: «Что иного можно ожидать от какой-то скотской болезни, как не новых и ужасных болезней. Кто в состоянии предусмотреть границы ее физических и нравственных следствий. Можно ли не опасаться, что у вакцинированных вырастут рога?» Другой же уверял, что после вакцинации «дочь одной леди начала кашлять, как корова, и вся обросла волосами». Появились карикатуры, в которых привитых изображали обросшими волосами, с коровьими рогами и хвостами».

Первая вакцинация против оспы в России была проведена в торжественной обстановке профессором Московского университета Ефремом Мухиным в 1801 году. Ребенку из воспитательного дома в Москве была привита оспа по дженнеровскому способу и в честь этого присвоена фамилия Вакцинов, пожаловано дворянство и пенсия.

С 1805 по 1810 год в России было вакцинировано уже около одного миллиона, а с 1824 по 1847 год «число младенцев, которым была привита оспа... достигло 24 милллионов».

Конечно, поскольку не все поголовно население подвергалось вакцинации, всегда сохранялись условия для возникновения и развития эпидемий. Так, в 70-е годы прошлого века во время франко-прусской войны в Европе погибло от оспы несколько тысяч человек.

В России сразу после революции, а именно в 1919 году, было зарегистрировано 186 805 (данные О. В. Барояна) случаев заболевания оспой с довольно высоким процентом смертельных исходов.

10 апреля 1919 года В. И. Ленин подписал декрет об обязательном оспопрививании, что положило начало массовым прививкам.

В 1924 году благодаря планомерному осуществлению мер по массовой противооспенной иммунизации населения заболеваемость оспой резко уменьшилась. К 1936 году в СССР оспа была полностью ликвидирована.

Расследование случаев «завозной» оспы может поспорить с фабулой иного детективного романа. Эпидемиологи переходят от одного контактного или заболевшего к другому, чтобы установить источник инфекции и взять под наблюдение по возможности всех, кто хотя бы предположительно мог с ним соприкасаться. Цель в этих случаях одна — пресечь распространение инфекции; способы достижения цели — изоляция контактных лиц и создание барьера из вакцинированных.

Так, чтобы остановить вспышку оспы в Брайтоне (Англия), было изолировано на 16 дней 3600 человек, взято под наблюдение 18 тысяч и вакцинировано в пожарном порядке около 150 тысяч. Заболело 29 человек и погибло из них — 10.

Теперь все это — прошлое, хотя и недавнее.

В 1958 году один из авторов этой книги, возглавлявший советскую делегацию на Всемирной ассамблее здравоохранения, внес на рассмотрение ассамблеи предложение Советского Союза приступить к ликвидации оспы во всем мире. Предложение было единодушно принято делегатами всех стран — членов Всемирной организации здравоохранения. Наша страна явилась не только инициатором программы глобального наступления на оспу, но и оказала материальную поддержку Всемирной организации здравоохранения и отдельным странам, выделив в их рас-

поражение крупные партии вакцины *. На решающих участках всемирной противооспенной программы трудились многие советские специалисты. И вот — успех: последний очаг «черной оспы» был ликвидирован в Бангладеш в 1975 году, а последний очаг более доброкачественной «белой» оспы был зарегистрирован в Сомали в 1976 году.

Человечество, объединив усилия, одержало победу над страшным недугом. Пример, достойный подражания!

Корь. Чисто человеческая болезнь — корь также известна с глубокой древности. Ее рассматривали как один из вариантов в общей группе сыпных болезней. Разес тысячу лет назад описал ее очень подробно как разновидность оспы.

В средние века корь была занесена в Америку. Тогда она занимала первое место по распространенности среди детей младшего возраста, постоянно обгоняя в своем свирепом разгуле таких убийц, как скарлатина и дифтерия. Следует заметить, что корь очень медленно сдает свои позиции. Ныне осложнения от кори и смертность резко снизились, однако еще недавно в нашей стране ежегодно болели корью до двух миллионов детей.

На долю кори в общей инфекционной патологии приходится почти одна четвертая часть.

Человек чрезвычайно чувствителен к кори. 95% людей, повстречавшись с вирусом, если они не имеют иммунитета, то есть не привиты или не переболели корью ранее, непременно заболевают. И происходит это, как правило, в раннем детстве; только в изолированных поселениях может вырасти поколение, избежавшее такой участи. Тем, однако, опаснее для него будет корь, если она настигнет его потом: взрослые намного тяжелее переносят заболевание, чем дети. Так что случай заболевания корью футбольной команды, описанный в широко известной повести Лагина, окончился благополучно не иначе как в результате вмешательства всемогущего Хоттабыча.

Исторические примеры вспышек кори среди взрослого населения нередко много трагичнее. В XIX веке в Европе зарегистрировано несколько эпидемий кори. В 1846 году инфекция была занесена на Фарерские острова, где кори не было 65 лет. Из 7782 человек, населяющих острова,

---

* С 1960 по 1978 год СССР передал безвозмездно в фонд борьбы с оспой около 1,5 миллиарда доз вакцины.

заболело 6000. Не заболели лишь те, кто переболел корью в предыдущую эпидемию в 1781 году.

В 1951 году подобного рода человеческая популяция сложилась в Гренландии. В результате случайной инфекции за три месяца переболело около 4,5 тысячи человек — практически все население этой территории. Причем у взрослых заболевание протекало гораздо тяжелее. Несмотря на применение антибиотиков для лечения осложнений, а для профилактики заболевания — гаммаглобулина, смертность достигла 18%.

В 1952 году корь, занесенная детьми иностранного персонала, поразила в районах канадской Арктики 99% коренного населения.

Вирусная природа кори установлена еще в 1911 году, но выделить вирус кори удалось лишь в 1954 году, использовав метод культуры ткани (см. экскурсию вторую).

Возбудитель кори содержит РНК и имеет внешнюю оболочку. Тип симметрии вируса — спиральный. Проникая в клетки, вирус вызывает очень своеобразные их поражения — в результате слияния нескольких соседних клеток образуются гигантские клетки с многочисленными ядрами — так называемые симпласты.

В самое последнее время получены новые данные, значительно расширяющие наши представления о роли вируса кори в патологии человека. Подробнее об этом поговорим в четвертой экскурсии.

Выделение вируса открыло путь создания вакцины против кори. Ученые и медицинские работники накопили уже большой опыт ее применения в массовом масштабе. В нашей стране разработана и внедрена в практику живая вакцина из ослабленного вируса кори.

Но вакцина против кори все еще сохраняет определенные недостатки. Прежде всего, она сравнительно, как говорят врачи, реактогенна, реакция на введение вакцины выражается в основном кратковременным повышением температуры.

Некоторые специалисты высказывали мнение, что вакцинация против кори — это, по существу, прививка очень легкой кори, никогда не дающей осложнений, обычных при кори «дикой». Поиски более совершенной вакцины продолжаются.

Как бы то ни было, но миллионы детей в разных странах мира получают противокоревые прививки, которые защищают их от достаточно тяжелого инфекционного

заболевания, в противном случае практически неизбежного. В общей системе лечебных и противоэпидемических мероприятий в борьбе с корью прививки прочно занимают одно из первых мест, и корь постепенно сдает свои позиции.

Полиомиелит. Полиомиелит (старое название «детский паралич») — вирусное заболевание, при котором поражается серое вещество центральной нервной системы. Возбудитель полиомиелита — мелкий вирус, не имеющий внешней оболочки и содержащий РНК. Его выделили Ландштайнер и Поппер в 1909 году методом заражения обезьян растертым мозгом умершего от полиомиелита ребенка. В 1959 году вирус удалось получить в очищенном и концентрированном препарате.

В силу своей способности вызывать специфические поражения конечностей полиомиелит имеет богатую археологию. В 1900 году Митчел изучал египетские мумии. При исследовании одной достаточно хорошо сохранившейся мумии он обнаружил изменения костей, характерные для полиомиелита.

В храме богини плодородия Астарты в Мемфисе обнаружено выполненное за 1580 лет до нашей эры и ныне широко известное изображение жреца из Сирии Румы, имеющего типичное поражение нижней конечности, которое мог вызвать, по всей видимости, только полиомиелит.

Характерные изменения костей были найдены при раскопках в Гренландии на скелетах, относящихся к 500—600 годам до нашей эры. Примерно тогда же — в IV веке до нашей эры — Гиппократ описал вспышку полиомиелита на острове Фарос.

Хотя исторически полиомиелит известен давно, его эпидемический характер был окончательно выявлен только в прошлом веке. В 1836 году английский патологоанатом Чарлз Белл отметил ряд случаев детского паралича в изолированном населенном пункте на острове Святой Елены, полагая, что это скопление случаев «заслуживает выяснения». Видимо, это первое подозрение о вспышке полиомиелита. Цельное описание полиомиелита дал в 1840 году Гайне.

В 50-е годы нашего столетия резкое увеличение заболеваемости полиомиелитом отмечено в ряде стран — США, Канаде, странах Южной Америки, Скандинавии, Центральной Европы. С 1949 по 1953 год в США переболело

полиомиелитом 200 тысяч человек. По данным 1956 года, в США зарегистрировано более 300 тысяч инвалидов после паралитических осложнений полиомиелита. Если учесть, что на каждое заболевание с параличом приходится от 100 до 1000 случаев бессимптомной нерегистрируемой инфекции, то получается, что инфицированию подвергалось практически все население страны.

Заболеваемость полиомиелитом отличается рядом характерных особенностей. Полиомиелит распространяется по типу кишечных инфекций. Повышение санитарного уровня жизни населения существенно снижает заболеваемость, однако протекает инфекция тяжелее. Происходит это потому, что при высоком уровне санитарии дети не заражаются в раннем возрасте, но инфицируются позже. Полиомиелит как бы взрослеет, а у взрослых заболевание протекает значительно тяжелее. Некоторые специалисты выделяют даже «европейский» и «африканский» типы заболеваемости полиомиелитом, подчеркивая роль санитарно-гигиенического фактора.

Своеобразная заболеваемость полиомиелитом наблюдается иногда в воинских частях, попадающих на иностранную территорию. Среди солдат возникают вспышки полиомиелита с частотой, большей, чем в их родных местах или среди местного населения на занятой территории.

В этом случае «военные действия» против чужеземных войск ведут местные штаммы вируса полиомиелита, новые для солдат, которые оказываются «восприимчивыми иммигрантами».

Ситуация 50-х годов требовала решительных и эффективных мер борьбы с полиомиелитом. Неоценимую роль в успехе этой борьбы сыграл, как мы уже говорили, метод культивирования тканей вне организма. В 1949 году Эндерсу удалось добиться размножения вируса полиомиелита в культуре клеток зародыша человека.

В дальнейшем на культуре ткани была получена вакцина против полиомиелита и организовано ее массовое производство. Сначала это была убитая вакцина, затем — более эффективная живая вакцина.

Разработка и производство полиовакцины — разительный пример взаимной стимуляции методических исследований и практических потребностей. Появление метода культуры ткани явилось, в свою очередь, необходимым условием получения вакцины против полиомиелита. Ин-

тенсивные исследования в этой области, необходимость развертывания производства вакцины в широких масштабах резко продвинули вперед знания о культуре ткани. Именно в этой работе были заложены основы нынешнего состояния, когда культура ткани стала одной из ведущих методических основ современной вирусологии.

С 1955 по 1959 год сложилась серьезная обстановка по заболеваемости полиомиелитом в нашей стране. Советским вирусологам и медикам удалось в короткий срок освоить технологию производства вакцины и организовать массовую иммунизацию населения. Кому не известны теперь конфетки-драже с живой полиовакциной! Заслуги советских ученых М. И. Чумакова и А. А. Смородинцева были отмечены Ленинской премией.

В своей книге «Итоги полувековой борьбы с инфекциями в СССР» О. В. Бароян отмечает: «Последовательно осуществленные мероприятия по вакцинации наиболее восприимчивых возрастных групп детского населения вначале убитой вакциной Солка, а с 1960 г.— живой вакциной Себина привели к ликвидации этой инфекции на территории СССР. Без преувеличения можно сказать, что решающим фактором ликвидации этого тяжелого заболевания в столь короткий срок была система организации советского здравоохранения. Чтобы представить масштабы этой работы достаточно сказать, что за 5 лет не только была освоена технология массового изготовления этих препаратов, но и было последовательно вакцинировано и ревакцинировано свыше 70 млн. человек».

В результате массовой вакцинации заболеваемость в 1965 году по сравнению с 1958 годом снизилась в 50 раз и в дальнейшем была переведена на уровень спорадических случаев. Советская вакцина успешно «работала» на ликвидацию эпидемий полиомиелита в ряде зарубежных стран, в частности в Японии.

Борьба с полиомиелитом — яркая страница вирусологии. Применение полиовакцины позволило быстро и эффективно гасить эпидемические вспышки инфекции, резко снизилась заболеваемость, ученые начали искать пути полного искоренения этой инфекции.

Однако следует иметь в виду, что вакцинация живой вакциной — это не ликвидация вируса-убийцы, а только замена его искусственно ослабленным лабораторным штаммом, безопасным для человека. Как долго этот ослабленный штамм сохранит свои свойства, покажет время.

Бешенство. Бешенство — инфекционное заболевание, передающееся человеку при укусе или контакте со слюной больного животного, чаще всего собаки, волка, лисицы. Один из бросающихся в глаза признаков развивающегося бешенства — водобоязнь, когда у больного затруднено глотание жидкости, развиваются судороги при попытке пить воду. Поэтому заболевание часто называют гидрофобией.

Вирус бешенства содержит РНК, уложенную в нуклеокапсид спиральной симметрии, покрыт оболочкой и при размножении в клетках мозга образует специфические включения, по мнению некоторых исследователей,— «кладбища вирусов», носящие название телец Бабеша — Негри.

Бешенство известно очень давно. Рисунки Древнего Египта доносят до нас изображения бешеных собак. Описание заболеваний животных, не оставляющее у нас сомнений в том, что речь идет о бешенстве, можно найти у Демокрита и Аристотеля, а заболевание у человека описал в I веке нашей эры Цельс.

Вплоть до конца прошлого века ничто не могло спасти человека от бешенства. Известно, что каждый заболевший бешенством погибает, а из числа укушенных и нелеченных заболевает каждый второй. Тысячи лет бешенство играло жизнью человека. Единственным приемом, который рекомендовали еще римские врачи, было прижигание ран каленым железом.

Современный этап борьбы с бешенством начался в 1881 году, когда великий Пастер со своими сотрудниками Ру и Шамберланом приступил к изучению возбудителя бешенства. 6 июля 1885 года к Пастеру привели Иозефа Мейстера, мальчика из Эльзаса, укушенного бешеной собакой. С 7 по 16 июля мальчик получил первую антирабическую прививку фиксированным вирусом бешенства по разработанному Пастером методу.

Через полтора года, в конце 1886-го, уже 2500 человек были обязаны этому методу жизнью, благодаря прививкам Пастера избежав мучительной и так недавно неминуемой смерти от бешенства.

В наше время сеть учреждений, ведущих борьбу с бешенством, охватывает большинство районов земного шара. Антирабические, или пастеровские, станции ведут наблюдение за бешенством у диких и домашних животных, принимают меры к предупреждению заболевания у людей. Еще не так давно бешенство регистрировалось в 89 стра-

нах. В течение года всемирная статистика учла несколько сотен случаев гибели людей, укушенных бешеными животными и не получавших прививки. Среди тех, кто получал антирабические уколы, смертность в десятки раз ниже. В 1961 году, например, сообщалось о гибели лишь 64 человек, получивших антирабические прививки.

На земле существует ряд районов, свободных от бешенства. Службы здравоохранения и ветеринарии тщательно поддерживают их карантинными мероприятиями. Бешенства нет в Англии, в Австралии и на ряде островов Тихого океана.

Русские ученые имеют богатые традиции борьбы с бешенством. Вторая в мире пастеровская станция была открыта в 1886 году в Одессе. У колыбели организации системы борьбы с бешенством в нашей стране стояли выдающиеся соотечественники — И. И. Мечников и Н. Ф. Гамалея.

Государственная система борьбы с бешенством дает свои плоды. Например, многие годы не регистрировалась заболеваемость бешенством в Прибалтийских республиках. Однако до сих пор в Советском Союзе пока еще регистрируется в год до 40—50 случаев этого вирусного заболевания.

Эпидемический гепатит. Эпидемический (инфекционный) гепатит, или болезнь Боткина,— вирусное инфекционное заболевание, протекающее с преимущественным поражением печени и сопровождающееся зачастую желтушным окрашиванием кожи, слизистых, склер.

Несмотря на настойчивые усилия ученых многих стран, вирус возбудитель гепатита человека еще не выделен. Тем не менее многие его свойства нам известны. В опытах на добровольцах показано, что заболевание эпидемическим гепатитом можно вызвать, вводя в здоровый организм сыворотку крови или фекалии больного, освобожденные от бактерий. Предварительная обработка материала ультрафиолетовыми лучами, поражающими инфекционную нуклеиновую кислоту вирусов, предотвращает заражение.

Известно, что вирус гепатита обладает высокой устойчивостью. Он может годами сохраняться в высушенном материале при комнатной температуре, выдерживать кипячение в течение 30 минут и кратковременную обработку обычными дезинфицирующими средствами. Вирус длительное время сохраняется в воде и выделениях больного. Размножается он только в организме человека — это облигатный (обязательный) паразит человека.

Эпидемический гепатит известен в двух формах: собственно инфекционный гепатит, передающийся от человека к человеку как кишечная инфекция, и сывороточный гепатит, передающийся людям при проведении переливаний крови, уколах и т. д. В 1888 году Боткин пришел к заключению, что «катаральная желтуха», как тогда называли вирусный гепатит, является самостоятельным инфекционным заболеванием.

Инфекционный гепатит часто отмечали в армиях во время войн. Распространение его в военное время отражает старое название болезни — «солдатская болезнь», или «желтуха военных действий».

Типичный случай заболевания описал Хемингуэй в романе «Прощай, оружие».

В 1806 году в армии Наполеона в Пруссии и Польше заболело желтухой сразу несколько десятков тысяч человек.

Сывороточный гепатит часто бывает у диабетиков, наркоманов и других людей, постоянно делающих себе инъекции, а также у любителей татуировок.

Своеобразная проблема возникла при проведении массовых вакцинаций. Впервые серьезное внимание на это обстоятельство обратили во время проведения прививок против желтой лихорадки, после которых нередко возникал сывороточный гепатит. Между 1939 и 1945 годами в США и Англии было зарегистрировано 10 тысяч случаев гепатита, который так и называли: «желтуха после вакцинации против желтой лихорадки».

Дело было в том, что в состав вакцины входили небольшие количества сыворотки человека. В некоторые партии вакцины попала сыворотка носителя вируса. Оказалось, что для того чтобы вызвать заболевание, достаточно ввести всего 0,01 миллилитра зараженной сыворотки.

Сывороточный гепатит возникал при прививках против кори, оспы в случае, если в состав вводимого материала входила человеческая лимфа. Стерилизация человеческой сыворотки фильтрацией удаляла бактерии, но вирусы оставались!

Как правило, при вирусном гепатите регистрируется невысокая смертность. Но вот в 1947 году в Копенгагене и Базеле произошла вспышка эпидемического гепатита среди пожилых женщин с тяжелым течением и необычно высокой смертностью (до 20%).

Учет заболеваемости вирусным гепатитом в широких

масштабах стали вести сравнительно недавно; например, Всемирная организация здравоохранения — с 1950 года. И выяснилось, что наблюдается довольно активный рост заболеваемости гепатитом. В США с 1950 по 1955 год она выросла в 20 раз, в Норвегии — в 12 раз, в Дании — в 10 раз и т. д.

Если в 1950 году на земле зарегистрировано 30 тысяч случаев заболевания вирусным гепатитом, то в 1956 — больше 200 тысяч, в 1960 — больше 300 тысяч, а к 1965 году эта цифра приблизилась к полумиллиону.

Возможно, что такой быстрый рост связан в определенной степени с улучшением диагностики и регистрации заболевания. В таком случае мы до сих пор еще не знаем истинных масштабов поражения человечества вирусными гепатитами.

Твердо установлено тем не менее, что по числу вызываемых смертей на сегодняшний день гепатит (преимущественно сывороточный) вышел на одно из первых мест среди инфекционных заболеваний и что проблема гепатита превращается в одну из ведущих в современной вирусологии.

Невидимые стражи природы (арбовирусы)

Таинственный страж, невидимый и беспощадный, веками охранял заповедные уголки природы. Это арбовирусы — вирусы, которые передаются человеку и животным при укусе кровососущими насекомыми: комарами, клещами, москитами.

Эти вирусы могут очень долго существовать в природе независимо от присутствия человека, циркулируя в природных очагах. При встрече с людьми, при нападении на человека инфицированных кровососущих насекомых эти вирусы могут передаваться человеку и вызывать его заболевания. Попадая в природный очаг, человек может включаться в цепь циркуляции вируса.

Проблема арбовирусных инфекций, как правило, возникала особенно остро во время освоения новых территорий, внедрения человека в дикую или до того данным коллективом людей необжитую природу. Проблема освоения новых земель всегда стояла перед нашим государством. Не удивительно, что именно в СССР более 40 лет назад, в период мощного подъема индустриализации, академиком Е. Н. Павловским было создано завоевавшее ны-

не мировое признание учение о природной очаговости болезней.

В джунглях Южной Америки и на островах Индонезии, в лесах Европы, Азии и на Африканском континенте — всюду, где человек соприкасается с дикой природой, учение Павловского служит надежным ключом для исследователей, ставящих перед собой задачу защиты человека от неизвестных опасных заболеваний.

Путь к знанию, однако, был долгим. Он усеян бесчисленными жертвами.

Сотни лет наводила ужас на колонистов Нового Света и миссионеров Африки желтая лихорадка. Из-за малярии и желтой лихорадки Западную Африку прозвали «могилой белого человека». С 1793 по 1900 год желтая лихорадка поразила не менее 500 тысяч человек.

Впервые с эпидемией желтой лихорадки в 1648 году познакомились жители полуострова Юкатан. Жар, бред, рвота, часто с кровью (черная рвота), боли в спине, головные боли — такое начало, как правило, приводило к поражению печени, желтухе и гибели заболевшего. По торговым путям лихорадка быстро распространилась на север и юг побережья Америки, а затем в Европу. За 47 лет только в Гаване болезнь унесла 36 тысяч жителей. В результате проникновения желтой лихорадки в некоторые районы там заболевало и погибало так много людей, что жизнь на время замирала.

Многие и многие энтузиасты безуспешно пытались раскрыть тайну этой тропической болезни. В начале нашего столетия в неравный бой с загадочным врагом вступила «великая четверка», руководимая Ридом. Заболел желтой лихорадкой и умер один из исследователей — Дж. Лезир, погиб потому, что не согнал с руки заразившего его комара, не согнал сознательно, так как уже были подозрения, что именно эти комары переносят смертельную заразу.

Ценой жизни ученого переносчик был найден. Вскоре была доказана вирусная природа возбудителя. Так началось изучение арбовирусных инфекций.

Хотя в результате борьбы с переносчиками комарами крупные очаги желтой лихорадки ликвидированы, мелкие очаги заболевания существуют и по сей день, особенно в центральных районах Южной Америки.

Есть желтая лихорадка и в Африке. В 1940 году в Нубийских горах эпидемия охватила 15 тысяч человек, ка-

ждый десятый из них умер, а в 1960—1962 годы желтая лихорадка распространилась в Эфиопию. Прежде чем эпидемию удалось остановить массовой вакцинацией, она убила около 15 тысяч человек. Смертность достигала 80%.

Со времени открытия вирусной природы желтой лихорадки группа арбовирусов быстро расширялась.

Первая крупная эпидемия японского энцефалита была зарегистрирована в 1924 году. Тогда в Токио заболело свыше 6000 человек и 3800 умерло. Вирус был выделен только в 1934—1935 годы.

В 1935 году в США (штате Миссури), вспышка арбовирусной инфекции поразила свыше тысячи человек, более 200 из них погибло. Заболевание напоминало тяжелый грипп. Выделенный вирус так и назвали — «вирус Сан-Луи». Широко распространившаяся вспышка этой инфекции произошла в США в 1964 году.

В 1938 году в США была зарегистрирована крупнейшая эпидемическая вспышка среди лошадей, охватившая 184 тысячи животных. Заболевание протекало с высокой, до 90%, смертностью. Так исследователи познакомились с лошадиными энцефаломиелитами. В 1941 году возбудитель западного энцефаломиелита лошадей поразил в США более 3000 человек, вызвав гибель от 8 до 15% заболевших.

В 30-е годы в СССР был выделен один из наиболее опасных возбудителей, с которым люди могут встретиться в необжитых таежных районах,— вирус весенне-летнего клещевого энцефалита. История его открытия и изучения широко известна. Вирусологи всего мира по достоинству оценили подвиг советских ученых. Сейчас ни одна партия геологов, ни один отряд рабочих не отправляются в поле, не защищенные противоэнцефалитной вакциной.

Но не сразу появилась вакцина. Годы тяжелого труда, многочисленные экспедиции и даже гибель их участников — это был нелегкий, но славный путь.

Выделение вируса клещевого энцефалита начало многолетнюю войну с переносчиком — клещом. Если ранее клещ представлялся лишь неприятным кровососущим насекомым, то теперь в нем стали видеть жестокого врага. Дальнейшие исследования показали, что не только таежные, но и многие другие виды клещей в лесах, степях и пустынях переносят инфекции.

Обилием очагов заболеваний издавна отличаются Сахалин, Хабаровский и Приморский края. Клещевой и

японский энцефалит, геморрагические лихорадки, вызываемые вирусами, соседствуют с Ку-лихорадкой и лихорадкой цуцугамуши, вызываемыми близкими соседями вирусов — риккетсиями. Они также переносятся клещами.

Человек, как правило, заболевает, только попав в зону нападения зараженных насекомых. Лихорадка цуцугамуши, иначе называемая кустарниковым тифом, отличается настолько четкой очерченностью очагов, что исследователи назвали их «тифозными островами».

Известны случаи, когда люди попадали в очаг и заболевали, тогда как их соседям, расположившимся всего в десятке метров, но вне «острова», опасность не угрожала.

«Тифозные острова» могли существовать долгое время, так как клещи способны передать риккетсии своему потомству как бы по наследству.

Кстати, свойство передавать возбудителя потомству характерно также для клещей — носителей болезнетворных вирусов.

До войны лихорадку цуцугамуши считали редким заболеванием, но она приобрела печальную славу после того, как войска союзников потеряли более 20 тысяч человек, заболевших кустарниковым тифом.

Только теперь мы можем в достаточной мере оценить мужество отважного экипажа «Манчжура», сто лет назад основавшего Владивосток, героизм первооткрывателей, встретившихся на Дальнем Востоке с неизвестной и враждебной природой, грозящей смертельными заболеваниями.

Природные очаги болезней известны и в районах Средней Азии. В селениях Таджикистана и Туркмении издавна знают места, обычно заброшенные глинобитные дома, пещеры и пр., о которых в народе ходила дурная слава. Люди, отважившиеся заночевать в этих жилищах, непременно тяжело заболевали. Причина болезни таилась в клещах, населявших развалины. Они могли долгие годы сохранять возбудителей заболевания, похожего на тиф, и передавать их при укусе человеку.

Список наиболее распространенных арбовирусов, вызывающих заболевания человека, включает вирус денге. Лихорадка денге, или «костоломная лихорадка», как ее называют англичане, впервые встречавшиеся с нею при колонизации тропических земель, распространена в странах Южной и Юго-Восточной Азии. Вирусы, вызывающие ее, переносятся комарами. Лихорадку денге считали

сравнительно легким заболеванием, но, оправдывая свое название, вызывая сильнейшие боли в костях рук и ног, она лишала работоспособности человека на столь долгое время, что известный английский естествоиспытатель Дадли Стамп упоминает костоломную лихорадку наряду с такими «всемирными убийцами», как желтая лихорадка и полиомиелит.

В конце прошлого десятилетия с вирусом денге стали связывать заболевание, имеющее новые, более опасные признаки. Оно появилось на Филиппинах, а затем и в других районах Южной Азии, протекало с грозными симптомами повышенной кровоточности и нередко имело трагический исход.

Год от году частота тяжелых случаев возрастала, причем большей частью страдали дети. Все это заставило Всемирную организацию здравоохранения обратить особое внимание на изучение лихорадки денге.

Читатель уже заметил, что арбовирусные инфекции особо опасны для людей, впервые попадающих в зараженный район. Дело в том, что население, проживающее в очаге инфекции, в результате длительного контакта с малыми дозами возбудителя приобретает определенную невосприимчивость к инфекции.

Наибольшие вспышки наблюдаются, однако, не только когда новые люди попадают в ареал распространения арбовирусной инфекции, а тогда, когда в силу тех или иных природных и климатических условий сдвигается, захватывая новые населенные области, сама граница ареала.

Так, распространение комаров, переносчиков вируса денге, за границы обычного ареала могло давать редкие, но массовые вспышки, охватывавшие миллионы людей. Такие эпидемии наблюдали на севере США в 1922 году, в Австралии — в 1925—1926 годы, в Греции — в 1927—1928 годы, в Японии — в 1942—1945 годы.

По-настоящему оценить, как широко распространены арбовирусы, оказалось возможным только недавно. Достаточно сказать, что из более чем 300 известных сейчас представителей этой самой многочисленной группы вирусов, поражающих человека, более двух третей открыто за последние 15 лет.

Недавно была вспышка эпидемии (с большим процентом трагических случаев) в Западной Германии. Ее вызвал неизвестный вирус, завезенный с обезьянами из Уганды. Выделение новых арбовирусов продолжается и сейчас.

В последние годы ряд вирусов выделен в СССР — это вирусы Сумах, Тюлений, Охотский и др.

Вирусы часто называли по месту выделения, и потому многие из них носят экзотические имена — Буньявера, Нтая, Кумба, залив Терпения...

Некоторые арбовирусы названы по симптому болезни. Например, в Африке распространен вирус чикунгунья, что в переводе означает «болезнь, сгибающая суставы». Действительно, из-за сильных болей в суставах заболевшие лежат с согнутыми конечностями.

Арбовирусы обитают в любом районе земного шара, но каждый хозяйничает на своей территории. Особенно многочисленны они в экваториальных странах. Перемещаясь с насекомыми, они могут значительно расширять свои владения. Принципиально важную роль в перемещении арбовирусов играют перелетные птицы.

Этот вопрос в последние годы привлекает самое пристальное внимание. Наши милые птички, перезимовав в жарких странах, вполне могут вернуться оттуда, неся в крови или с насекомыми, которых всегда достаточно на теле птицы, вирусы-возбудители. Конечно, чтобы обосноваться на новом месте, вирус должен попасть в благоприятные климатические и экологические условия. И в этой проблеме больше вопросов, чем ответов. Тем не менее перелетные птицы в последние годы признаны важными факторами циркуляции арбовирусов.

Мы осваиваем новые земли, возводим электростанции на далеких реках, открываем местонахождения полезных ископаемых, добываем уголь, руду, нефть. Прежде чем тысячи людей придут в тайгу, горы, степи, туда отправляются вирусологи. На разведку. Чтобы труд человека был безопасен, чтобы никакие вирусы не угрожали ему.

И каждая такая разведка — встреча с неизвестным.

Вновь открытие...

Нобелевская премия по медицине в 1976 году была присуждена за два важных открытия в вирусологии. Первое принадлежит американскому биохимику Барри Бламбергу и касается вирусного гепатита, второе — Карлтону Гайдушеку, тоже американцу, вирусологу, создателю учения о медленных вирусных инфекциях.

Суть работы Бламберга сводится к обнаружению так называемого австралийского антигена (впервые обнару-

жен у аборигенов Австралии). Антиген, как правило, появлялся у людей, которым многократно переливали донорскую кровь, и всегда свидетельствовал о циркуляции в организме таких людей вируса гепатита В. Как теперь твердо установлено, этот неуловимый (до работы Бламберга) вирус чрезвычайно широко распространен на нашей планете. Его, как в сберегательной кассе, хранят в себе десятки миллионов так называемых вирусоносителей. Сравнительно немногие из этих людей болеют гепатитом, но все они представляют серьезную потенциальную опасность для окружающих, так как являются не чем иным, как ходячими резервуарами инфекции.

Открытие Бламбергом австралийского антигена позволило разработать новую эффективную и специфическую реакцию, пригодную как для диагностики гепатита у больных, так и, что особенно важно, выявления многочисленных вирусоносителей. Прежде всего, такие люди не могут быть донорами — их кровь непригодна для переливания. Кроме того, как оказалось, вирус гепатита В отличается большой устойчивостью и простое кипячение хирургических инструментов, шприцев и игл для инъекций, ранее применявшееся для стерилизации, этот вирус может не убить. Это обстоятельство потребовало использования автоклавирования (стерилизация паром под давлением) для гарантированного уничтожения вируса. А для инъекций в последнее время все шире используются пластмассовые шприцы одноразового использования. Эти мероприятия в сочетании с контролем донорской крови на австралийский антиген позволили заметно снизить заболеваемость гепатитом В. Таков практический смысл открытия Бламберга.

Заслугой Гайдушека является расшифровка загадочного заболевания с экзотическим названием куру. Как доказал ученый, это классическая медленная вирусная инфекция, которая характеризуется действительно очень медленным течением (иногда много лет) и всегда приводит к фатальному исходу. Болезнь поражает туземцев племени Форе — жителей острова Новая Гвинея. Сначала у больных нарушается походка, затем появляется дрожание головы и конечностей, напоминающее озноб. На более поздних стадиях заболевания больные теряют способность ходить, говорить, самостоятельно есть и погибают от истощения. Гайдушек, проведя многолетние наблюдения, предположил вирусную природу куру и связал заражение со старинным ритуальным обычаем племени Форе поедать

мозг умершего соплеменника. Строгие экспериментальные доказательства передачи вируса таким путем были получены с помощью трудоемких опытов на шимпанзе. Заболевание начиналось иногда более чем через 3 года (!) после введения в мозг обезьян растертых кусочков мозга погибших от куру людей. Развитие болезни наблюдалось при так называемых пассажах, или переносе материала от больных обезьян здоровым. В процессе таких пассажей удалось сократить период от заражения до начала заболевания до года. После того как туземцы племени Форе по рекомендации Гайдушека отказались от пагубного людоедского обычая, заболевание куру практически сошло на нет.

Расшифровка этого в общем-то экзотического заболевания, опасного приблизительно лишь для 30 тысяч туземцев-людоедов, имела очень серьезное значение для понимания других медленных инфекций. При исследовании головного мозга умерших от куру было обнаружено, что в результате постепенной гибели нервных клеток он становится пористым, как губка. Заболевания подобного типа получили название «губкообразных энцефалопатий». Всего в настоящее время известно 14 таких заболеваний и доказано, что все они принадлежат к медленным вирусным инфекциям.

Работы Бламберга и Гайдушека привлекли внимание ученых к большой группе хронических вирусных болезней, которые как-то оставались в тени, хотя это совершенно не соответствует ни тяжести этих болезней, ни их распространенности.

Тем, кто хочет иметь более широкие представления о «медленных инфекциях», советуем прочитать превосходную книгу В. А. Зуева «Третий лик», вышедшую в издательстве «Знание» в 1979 году.

ТРЕВОЖНЫЕ НАХОДКИ

Некий пьяница, выпив перед обедом стакан вина, напутствовал его такими словами: «Не очень-то располагайся — все равно тебе придется потесниться».

С. Шамфор

Бурный прогресс вирусологии в 60-х годах привел кое-кого к мысли, что все страшные и смертельно опасные вирусы уже открыты. А если где-то и есть еще не опознанные, то они скрыты в замкнутых очагах с уникальными условиями, откуда им никогда не выйти, не разорвать жесткие оковы экологической ниши.

Гром грянул в 1967 году. В этот год в ФРГ, в Марбурге и Франкфурте, а также в Югославии, в Белграде, заболело 30 сотрудников научно-исследовательских учреждений. Заболели те люди, которые использовали в своей работе ткани и клеточные культуры, полученные от зеленых мартышек, завезенных из Африки. Семеро заболевших погибло.

Еще хуже было то, что среди медицинского персонала, ухаживавшего за больными, а также среди близкого окружения заболевших возникло 6 вторичных случаев инфекции.

Тщательное обследование установило, что вспышка была вызвана «новым», не известным ранее науке вирусом, который получил наименование вируса Марбурга. У каждого третьего заболевшего инфекция сопровождалась тяжелыми кровотечениями.

Геморрагические вирусные лихорадки (геморрагия — кровотечение) известны давно. О некоторых мы уже говорили. Синдром кровоточивости отмечается при оспе, желтой лихорадке, а также при инфекциях, возбудители которых выделены в последние 30—40 лет — денге, чикунгунья, крымская и омская геморрагическая лихорадка, киассанурская лесная болезнь, лихорадка долины Рифт и др.

Распространены геморрагические лихорадки в основном в Азии, Латинский Америке, Африке. Например, вирус лихорадки долины Рифт вызывает тяжелое заболевание овец и крупного рогатого скота. В 1951 году в Кении погибло 100 000 голов крупного рогатого скота и заболело около 20 000 человек. К счастью, у людей это заболевание практически не вызывает смертельных исходов.

Чаще всего геморрагические вирусные инфекции передаются при укусе комаров или клещей, а также после контакта с больными животными. Из ранее известных только оспа передавалась непосредственно от человека к человеку.

И вот теперь — вирус Марбурга. Кто он? Кандидат на возникшую вакансию на место побежденного вируса оспы? Возбудитель вирусного мора XXI века? Пока мы можем вздохнуть свободно: с 1967 года более не отмечено случаев распространения вируса болезни Марбурга в Европе, но в Восточной Африке вирус циркулирует и вызывает заболевания обезьян и людей.

Дальнейшее развитие событий подтвердило, как говорится, «самые смелые опасения» в вопросе о возможности обнаружения вирусных инфекций, способных вызывать вспышки тяжелейших заболеваний у людей и передаваться от человека к человеку.

В 1969 году в Африке погибла медицинская сестра христианской миссии. Ухаживавшая за ней медсестра также заболела и погибла. Тяжело заболели еще трое сотрудников, имевшие контакт с первыми жертвами или обрабатывавшие лабораторный материал. Так вирусологи встретились с лихорадкой Ласса.

Обнаружение новой африканской лихорадки подняло множество тревожных вопросов. Какова эпидемиология выделенного вируса? Какие еще опасности таятся в девственных глубинах африканских лесов? Возможно ли усиление инфекционных свойств вируса при передаче от человека к человеку? Началось тщательное изучение возбудителя.

В Западной Африке в течение последующих 5 лет было зарегистрировано более 100 случаев этого заболевания. Особой опасности подвергался обслуживающий медицинский персонал. 20 заболевших были медицинскими работниками, 9 из них умерли. К 1977 году число вспышек лихорадки Ласса возросло до 49, в 27 из них было зафиксировано вовлечение медицинского персонала. Смертность при некоторых вспышках достигала 67%. Источником вируса Ласса оказались грызуны — многососковые крысы.

Выяснилось, что болезнь Марбурга и лихорадку Ласса вызывают неродственные вирусы. Вирус Марбурга был близок рабдовирусам, известным представителем которых является вирус бешенства. Однако родственные связи вируса Марбурга проступали лишь относительно. Более

определенное родство было обнаружено у вируса Ласса, он был отнесен к аренавирусам, среди которых уже известны возбудители аргентинской и боливийской геморрагических лихорадок.

Большие опасения вызвал вопрос о возможности транспортировки инфекции в непораженные области, закрепления и распространения вируса в новых сферах. Восемь раз больные лихорадкой Ласса появлялись на территории США и стран Западной Европы, но ни в одном случае не было установлено вторичного заражения. Современные транспортные средства позволяют совершить кругосветное путешествие за сутки. Прибытие в страну больного лихорадкой Ласса опасно, но еще более опасно прибытие на вид здорового человека, который уже инфицирован и находится в инкубационном периоде.

Настороженное внимание медицинских работников позволило расшифровать случаи загадочных инфекций, которые ранее могли быть пропущены. Так, например, заболел во время путешествия по Южной Африке турист. У больного развилась тяжелая лихорадка с нарушением функции печени и проявлениями повышенной кровоточивости. Заболевший погиб. Вскоре сходные симптомы выявились у его спутника и медицинской сестры, которая обслуживала больного.

Несколько лет назад в подобном случае врач скорее всего поставил бы диагноз желтой лихорадки или брюшного тифа. Ныне было заподозрено иное. Весь медицинский персонал, который контактировал с больным, был изолирован. Дальнейшее обслуживание пациентов проводилось с применением исключительных мер защиты. В условиях строжайших мер предосторожности было проведено исследование материала, взятого от погибшего. В результате удалось выделить вирус — вирус болезни Марбурга.

В августе — ноябре 1976 года вспыхнула геморрагическая лихорадка в Судане и Заире. Заболевание протекало тяжело и с высокой смертностью. Болезнь захватила медицинский персонал; многие врачи и медицинские сестры погибли. Распространение инфекции приняло столь серьезные масштабы, что местные органы здравоохранения обратились за помощью к Всемирной организации здравоохранения.

Усилия группы экспертов из состава международной комиссии ВОЗ, сотрудничавших со специализиро-

ванными вирусологическими лабораториями, привели к успеху. Специалисты выделили и «установили личность» виновника трагедии — вирус Эбола, морфологически не отличимый от уже знакомого нам вируса Марбурга.

Инфекция Эбола была воспроизведена экспериментально на обезьянах. У животных, которым вводили вирус, развивалась тяжелейшая инфекция с лихорадкой и кровоточивостью. Животные резко теряли в весе и через 5—8 суток неотвратимо погибали. Множество вирусных частиц обнаружили в легких, селезенке и особенно в печени.

Так за 10 последних лет на фоне блестящих достижений молекулярной и клинической вирусологии, а может быть, в существенной мере именно благодаря развитию теоретических и прикладных вирусологических исследований на Африканском континенте были открыты подряд три «новые» опасные инфекции.

Мы взяли слово «новые» в кавычки сознательно, чтобы еще раз подчеркнуть, что эти инфекции, их возбудители, конечно же, многие годы существовали в природе и, по всей видимости, поражали население. Но вирусология смогла распознать инфекцию и завести на заразное начало «паспорт», то есть идентифицировать его, только сейчас.

Всем трем возбудителям — вирусам болезни Марбурга, лихорадки Ласса и Эбола — присущи общие черты. Все они вызывают геморрагические лихорадки с крайне тяжелым течением, исключительно высокой смертностью, и все они могут передаваться от человека к человеку.

В механизмах развития этих инфекций еще много неясного. Неясно, прежде всего, чем, собственно, вызвана высокая тяжесть заболевания, что́ является причиной токсикоза, тяжелого поражения мозга, почек, сердечной мышцы. Тем не менее обнаружение врага уже позволяет принимать действенные меры контроля, предотвращать распространение грозной опасности, защищать персонал, работающий в угрожаемом регионе.

Малые виновники больших бед

Интенсивные работы по созданию, совершенствованию и широкому применению вакцин вместе с постоянными противоэпидемическими мероприятиями привели к тому, что детям сейчас в значительно меньшей мере

угрожает дифтерийное удушье или тяжелая инвалидность.

Эта большая победа имела своим следствием также и то, что большее внимание стали уделять так называемым малым детским инфекциям, среди которых вирусные заболевания играют фактически все первые роли.

Наиболее частые — эпидемический паротит (свинка), ветряная оспа и краснуха — известны, видимо, буквально всем. Не все, однако знают, что представление об этих инфекциях как о легких и внимания-то не заслуживающих заболеваниях в последнее время сильно изменилось.

Ветряная оспа и паротит занимают среди детских инфекций соответственно второе и пятое места. Ветрянку долгое время рассматривали как вариант оспы натуральной, и только в конце прошлого века завершился затянувшийся на 200 лет спор, в результате которого «суверенитет» этой детской болезни был окончательно доказан.

Само название болезни подчеркивает ее наиболее характерное свойство — фантастическую заразительность. Недаром в отношении ветрянки применяют термины «летучая инфекция», «летучий вирус». Вирус, конечно, сам не летает, но заразиться ветряной оспой, побывав в двухтрех десятках метров от больного, в другой комнате и даже на другом этаже, случается вовсе не редко.

Новорожденный защищен от болезни иммунитетом, полученным от матери, но через полгода эта невосприимчивость постепенно тает. Заболевание чаще происходит в холодное время года и особенно большие хлопоты приносит, когда распространяется в детских отделениях как внутрибольничная инфекция.

Это наиболее легкое из инфекционных заболеваний тем не менее может давать множество осложнений. Примерно каждый тысячный больной переносит энцефалит, каждый двухсотый — воспаление легких, а число случаев, когда ветрянка играет роль ключа или, скорее, отмычки, взламывающей противомикробную оборону организма и открывающей дорогу гнойным осложнениям, и того больше.

От одного до пяти на 10 тысяч заболевших погибают.

Вот вам и легкая инфекция!

Возбудитель ветряной оспы — вирус варицеллы — известен давно. Он сравнительно легко размножается в культуре клеток, что позволяет надеяться на создание вакцины. Первые шаги в этом направлении уже сделаны.

Парадоксально, но этот высокозаразный возбудитель очень нестоек в окружающей среде, быстро гибнет как при низкой, так и при обычной температуре, что тем не менее не мешает ему вызывать одну из самых «неуправляемых» инфекций.

Другая малая детская инфекция — эпидемический паротит, или заушница,— известна людям с глубокой древности и редко смешивалась с другими болезнями главным образом из-за типичной локализации поражения. Однако заразный характер болезни был признан сравнительно поздно, а вот воспроизвести инфекцию на обезьянах, привитых материалом от больного свинкой человека, удалось и вовсе лишь в 1934 году.

Мы уже говорили выше, что свинка — одно из самых массовых детских заболеваний. В последние годы, когда вакцинация стала снижать заболеваемость корью, удельный вес паротита еще более возрос.

Ироническое отношение к этому заболеванию долгое время сохранялось даже в среде медиков. И. В. Троицкий, русский врач, в 1883 году писал в «Материалах к учению об эпидемическом перипаротите»: «Сравнивая эпидемический перипаротит с другими формами повальных болезней, легко может показаться, что он представляет слишком невинное страдание для того, чтобы о нем много разговаривать. Такое заключение тем более может быть оправдано, что сам Нимейер в известном руководстве к частной патологии и терапии, описывая эпидемический перипаротит, прибавляет, что болезнь эта, не в пример прочим, вызывает со стороны врача и окружающих больного скорее улыбку, чем чувство сострадания».

В настоящее время медицина располагает данными, которые значительно прояснили вопрос о роли свинки в патологии человека. Паротит — болезнь коллективов. И, начиная с яслей,— одна из самых распространенных причин карантина. Смертные случаи при свинке встречаются не чаще, чем при ветрянке, но вот длительность заболевания... Почти 8% всех пропущенных в школе занятий — на «совести» свинки. И у военного врача диагноз «эпидемический паротит» вряд ли вызовет улыбку, ведь свинка — болезнь, наиболее часто выводящая из строя новобранцев. Как-то в одном из кадетских корпусов Германии паротитом заболело сразу 90% воспитанников. В американской армии в течение первой мировой войны заболело свинкой 8200 солдат.

Не всем известно, что, помимо той локализации, благодаря которой, собственно, и появилось название свинки, возбудитель довольно часто поражает центральную нервную систему, вызывая энцефалиты. У взрослых заболевших зачастую в процесс вовлекаются половые органы, что может привести к стерильности мужчин и, возможно, к бесплодию женщин.

Что же представляет собой возбудитель свинки? Вирион эпидемического паротита содержит РНК, имеет спиральный тип симметрии и довольно хорошо размножается в культурах клеток вне организма. Вирус устойчив при низкой температуре, но быстро гибнет под воздействием тепла, ультрафиолетовых лучей, борной кислоты, раствора марганцовки и других дезинфицирующих средств.

Для инфекционного паротита, как и для многих других вирусных инфекций, распространяющихся воздушно-капельным путем, характерна сезонность с максимумом заболеваемости в холодное время года. Меньше всего вероятность заболеть паротитом в августе. Достигнув двухлетнего возраста, когда полученный от матери иммунитет проходит, в среднем 6—7 детей из 10 становятся восприимчивыми к паротиту.

В «добрые старые времена», когда достижения цивилизации не накладывали еще столь яркого отпечатка на особенности распространения инфекций, свинка периодически посещала ту или иную местность спустя несколько благоприятных лет, вызывая эпидемические вспышки. Причем заболевание считалось, если можно так выразиться, не совсем детским, так как охватывало значительное число не имеющих иммунитета взрослых.

Ныне транспорт и скученность населения не позволяют маленькому человеку, вышедшему из поры невосприимчивости, буквально впитанной с материнским молоком, отсидеться где-нибудь в уединенной деревне, куда раньше паротит занести было просто некому. Свинка встречается теперь везде и сдвинулась на младшие возрастные группы.

И все же эпидемиологические казусы встречаются и в наши дни. В Петербурге (не в нашей Северной Пальмире, а в маленьком — 27 тысяч человек населения — городишке штата Массачусетс) после 17 лет отсутствия свинка поразила 1182 человека. Это случилось в 1941 году. На Фарерских островах в 1927 году после 30-лет-

него перерыва паротит охватил почти 60% населения. Такая же заболеваемость свинкой была во время совсем недавней (в 1965 году) вспышки на острове Св. Георгия в Беринговом море. Вирус паротита не посещал остров 58 лет. 21 мая инфекцию занесли на остров приезжавшие на каникулы школьники. Через неделю появились первые больные. К сентябрю на острове переболели фактически все восприимчивые люди.

Уже давно ученые-вирусологи и врачи работают над исследованием способов повышения невосприимчивости к паротиту коллективов, в первую очередь дошкольников и школьников. С 1945 по 1955 год за рубежом было предложено 13 инактивированных вакцин против свинки. В настоящее время созданы и усовершенствуются живые вакцины из ослабленного вируса. Можно полагать, что со временем этот путь будет использован для эффективного снижения, а возможно, и ликвидации заболеваемости эпидемическим паротитом.

Наконец несколько слов еще об одной чисто человеческой инфекции, вызываемой РНК-содержащим вирусом,— о краснухе.

Краснуха — одно из самых легких инфекционных заболеваний. Случаи смерти от краснухи можно чуть ли не по пальцам пересчитать. Осложнения отличаются доброкачественностью и отмечаются редко. И все же нет, видимо, другой инфекции, которая могла бы столь неожиданно, незаметно и неотвратимо вызывать тяжелые беды. Вирус краснухи — один из самых коварных.

Многие годы краснуху вообще не отделяли от кори, пока в 1881 году Международный педиатрический конгресс в Лондоне не привел к общему признанию самостоятельности этой болезни. В 1938 году была доказана вирусная природа краснухи, но внимание на нее обращали по-прежнему минимальное в силу ее крайней легкости. Однако начиная с 1941 года отношение к краснухе резко изменилось.

Офтальмолог из Австрии Грегг установил, что краснуха может приводить к прерыванию беременности, к гибели плода и появлению многочисленных пороков развития. Легкое заболевание беременных женщин, особенно если заражение краснухой происходит в первые месяцы беременности, может привести к тяжелейшим поражениям у ребенка. «Несерьезная» детская инфекция обернулась трагической проблемой.

Интенсивность исследований по краснухе резко возросла, и теперь многочисленные коллективы специалистов как за рубежом, так и в нашей стране заняты изучением этой инфекции. Краснуха обладает своеобразной и пока не очень понятной сезонностью. Наибольшее число случаев заболевания приходится на конец зимы и начало весны, особенно на апрель.

Почти каждый десятый заболевший имеет возраст от 20 до 40 лет, но основная масса больных — дети, причем наряду с явными клинически выраженными формами болезни в большом числе случаев встречаются стертые, невыраженные формы и бессимптомное носительство. Из-за этого инфекция довольно легко преодолевает противоэпидемические барьеры и распространяется повсеместно.

Как и у других инфекций подобного рода, у краснухи тоже есть свои острова. Подробно изучена вспышка инфекции в 1963 году на острове Св. Павла. Заболевание также было занесено школьниками, приехавшими на каникулы. За время немногим более двух месяцев переболела почти половина населения острова.

Некоторые исследователи подчеркивают необычайную быстроту распространения краснухи, превосходящую по этому признаку даже корь. Достаточно было двух инкубационных периодов (время от заражения до начала заболевания), чтобы охватить все население некоторых поселков Аляски, куда инфекция была случайно занесена.

Постепенно выяснились некоторые детали механизма, благодаря которому проявляется страшное действие вируса краснухи на развивающийся организм, казалось бы так надежно укрытый в теле матери.

Оказалось, что вирус краснухи способен специфически и избирательно влиять на генетический аппарат клеток, подавляя деление клеток в тканях зародыша. Ясно, что чем меньше возраст плода, тем губительнее это действие, тем грубее нарушения, тем более выражены они впоследствии. Американские ученые установили, что если перенесенная матерью в течение первых четырех недель беременности краснуха приводит к поражению плода в половине случаев, то после четырех месяцев беременности 19 из 20 переболевших женщин родили нормальных детей.

Еще одним неприятным последствием заболевания матери краснухой может быть врожденная краснуха ребенка, при которой организм новорожденного длительно, порой несколько месяцев, может выделять вирус. И дело

здесь не только в том, что больной ребенок становится источником инфекции. Антитела, присутствующие в его организме, оказываются едва способными защитить здоровые клетки. Освобождение от инфекции наступает только тогда, когда все инфицированные клетки погибнут.

Осознание краснушной инфекции как серьезной опасности поставило вопрос о разработке надежных средств борьбы с нею. Поиски здесь ведутся все более активно и самыми разнообразными методами.

Сейчас мы уже можем сказать, что создание эффективного прививочного препарата против краснухи является реальностью, хотя, конечно, дети и без того перегружены профилактическими прививками, что становится все более серьезным препятствием для внедрения новых вакцин. Определенные надежды — и, надо сказать, не безосновательные — возлагаются на пассивную защиту беременных женщин с помощью гаммаглобулина.

Экономические злодеи

Ящур. Ученые давно и глубоко интересуются ящуром. Его возбудитель уникален — именно он первым был изобличен как виновник заболеваний животных. Открытие мира вирусов вообще и вирусов растений в частности началось с возбудителя табачной мозаики, открытие вирусов животных — с ящура. Один из самых мелких вирусов, этот ультрамикроскопический комок живой материи, содержит в своей глубине свернутую спираль рибонуклеиновой кислоты — носителя всех его инфекционных свойств.

Люди крайне редко болеют ящуром. Но нет другого такого заболевания животных, которое распространялось бы столь быстро, так широко и приносило настолько большой экономический ущерб. Удивительная способность вируса ящура к распространению вытекает из чрезвычайной устойчивости вирионов ящура во внешней среде, способности инфицировать организм через неповрежденную кожу. Кроме того, для заражения достаточно минимальной дозы возбудителя.

Арабы в XIV—XV веках, а потом итальянцы в начале XVI века подробно описали заразную болезнь крупного рогатого скота — ящур. Так человечество узнало об еще одном из бесконечного множества зародышей повальных болезней, которые, согласно легенде, были заключены в древности всемогущими халдеями в храме Аполлона и

оттуда легкомысленно выпущены римскими легионерами, разграбившими храм.

Начиная с прошлого века ящур буквально свирепствовал во всех европейских странах. Достаточно сказать, что только во второй половине XIX века по Западной Европе прокатилось семь эпизоотий (повальных болезней животных) ящура. В России в 1891—1895 годах переболело ящуром не менее 5 миллионов животных. А ящур все еще не привлекал к себе пристального внимания! В начале века энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона писал о ящуре, что в отношении смертности он является одной из самых неопасных эпизоотий.

Гибель животных, снижение качества переболевшего скота, расходы на дезинфекцию и карантинные мероприятия — все это складывается в многотысячные убытки. Американские фермеры считают более выгодным забивать переболевших животных, так как ящур настолько изнуряет их, что лишает товарного вида.

Следует заметить, что уже в прошлом веке наблюдали ящур с крайне тяжелым течением и громадной смертностью. В Швейцарии так называемый «церебральный тиф» опустошал пастбища. В 1879 году в России был тяжелый мор, в Черниговской губернии погибло 95% заболевшего скота, а в Курской — 80% всех заболевших животных.

Как пламя раздуваемого пожара становится все грознее и грознее, так и вирус ящура в ходе эпизоотии набирает свою губительную силу. К середине нашего века ящур превратился в мировую проблему.

Человечество, совершив транспортную революцию, в тысячи раз облегчило и увеличило возможности широчайшего распространения всяческой инфекции. Фермеры и скотопромышленники, стремясь к получению сверхприбылей, стали перевозить скот на далекие расстояния в поисках выгодных рынков сбыта. Вслед за железнодорожным транспортом стали использовать автомобили и, наконец, авиацию, а поскольку дезинфекция транспортных средств и перевозимого скота трудоемка и дорогостоящa, то пропорционально скорости и маневренности транспорта легко и быстро распространялся ящур.

Одним карантином ограничить распространение заболевания трудно, а зачастую просто невозможно. Вирус находит такие пути, закрыть которые неимоверно сложно. Например, он может длительно сохраняться на грызунах и птицах, которые, сами не болея, переносят возбудитель

на далекие расстояния, вызывая возникновение новых вспышек.

Исследования последних лет показали, что вирус ящура может связываться с некоторыми присутствующими в почве бактериями и, как бы прикрывшись от внешних воздействий, месяцами сохранять свою инфекционность.

Тяжелые первые месяцы Великой Отечественной войны потребовали эвакуации не только людей и оборудования, но и громадного количества скота. Вспышки ящура распространились в глубь страны, еще более усугубляя тяготы начала войны.

Вирус ящура очень изменчив, этим он в какой-то мере напоминает вирус гриппа. Иногда чтобы преградить дорогу распространению его новой разновидности, необходимо создать защитный пояс массовым применением вакцины. Оперативное получение больших количеств новых разновидностей вакцин, так же как и создание надежного карантина, возможно только при применении масштабных, государственных мероприятий.

Нисколько не преувеличивая, можно сказать, что вирус ящура — один из самых жестоких экономических злодеев. Впрочем, в злодейской компании рядом с ним немало и других столь же опасных вирусов. Стоит назвать вирусы, вызывающие чуму и лейкозы кур, инфекционную анемию лошадей, острый инфекционный катар крупного рогатого скота, энцефаломиелиты лошадей и т. д. и т. п. Немалый ущерб приносит вирус псевдобешенства, или болезни Ауэски, поражающий домашний скот. Заболевание вызывает у животных нестерпимый зуд, доводящий до того, что животные могут наносить себе повреждения, царапая и кусая зудящие места. Недаром псевдобешенство называют безумной чесоткой.

Болезнетворные вирусы животных — серьезный противник. На его счету многомиллионные убытки, вымершие стада, потеря сырья, белковый голод.

Вирусы против растений. Одно из ранних исторических упоминаний о вирусах растений мы находим на полотнах Рембрандта. Изображенные на картинах тюльпаны имеют характерную полосатую расцветку, несомненно указывающую на заражение вирусом.

К сожалению, действие вирусов растений ни в коей мере не ограничивается цветами тюльпанов.

Вирусы эти наносят огромный ущерб сельскому хозяйству. И хотя на сегодняшний день описаны сотни виру-

сов, поражающих растения, и список этот возрастает изо дня в день, наши знания о вирусах растений далеко еще не достаточны.

«По выражению одного выдающегося вирусолога,— пишет английский ученый К. Эндрюс,—любой человек, хотя бы поверхностно знакомый с тем, как это делается, может, зайдя в свой сад утром, еще до завтрака открыть новый вирус растений».

Проникая в растения, вирусы активно размножаются в различных его частях, резко изменяют жизнеспособность и обменные процессы растения, сокращают срок его жизни, замедляют рост, снижают урожай, ухудшают качество сельскохозяйственной продукции.

По ущербу, наносимому таким ценным питательным и серьезным культурам, как картофель, бобы, свекла, табак, сахарный тростник, злаки, вирусы уступают только патогенным грибам. Достаточно сказать, что урожаи картофеля, пораженного вирусами, в 3—4 раза ниже.

При всем многообразии вирусы, поражающие растения, можно разделить на две большие группы. Одни вызывают нарушение равномерности окраски листьев — это мозаики. Другие замедляют и нарушают рост растений, приводят к скручиванию листьев, обесцвечивают их — это желтухи.

К наиболее вредоносным мозаикам относят морщинистую и полосчатую мозаику картофеля, мозаику и стрик томата, табачную мозаику, мозаику свеклы. Из желтух наибольший ущерб приносят вирусы желтухи свеклы, закукливания злаков, скручивания листьев картофеля.

От растения к растению вирусы переносятся или механически, или их переносят насекомые, а также черви. Причем между вирусом и насекомым может устанавливаться своеобразная связь. Например, на астрах, зараженных калифорнийским вирусом желтухи астр, хорошо развиваются нимфы некоторых видов цикадок, которые вирус и переносят. На здоровых растениях эти насекомые гибнут.

Борьба с вирусами растений очень непростая задача. Одно из направлений борьбы сводится к получению безвирусных растений, в частности безвирусного картофеля.

В больных растениях вирус распределен неравномерно. Быстрорастущие верхушки стеблей оказываются свободными от микроорганизмов. Причина этого до конца еще никому не понятна. Возможно, что распространение

вируса несколько отстает от роста стебля. Вирус в растении распространяется обычно достаточно медленно — один-два миллиметра в сутки. Молодые здоровые клетки верхушечных частей стебля, меристемы, как бы постоянно «убегают» от заражения.

Одна из существенных трудностей получения безвирусных растений — сложность отделения микроскопически малых незараженных кусочков верхушечных частей стебля. Но мало выделить кусочки здоровой ткани. Решить проблему — значит, из микроскопических крох стебля вырастить взрослое растение. Этот сложный кропотливый труд занимает многие месяцы.

Получение безвирусных растений открывает путь к производству безвирусных семян и резкому повышению урожая культуры. В некоторых странах, например в Японии, налаживается система получения безвирусного семенного материала в масштабах, которые могли бы обеспечить потребность целых районов.

Экономический ущерб, приносимый вирусами растений, огромен. Мы сейчас едва ли можем точно определить, какие уровни урожайности могли бы быть достигнуты, если бы из сельскохозяйственного производства этот ограничивающий фактор был исключен. По разным оценкам вирусы растений снижают мировой урожай сельскохозяйственных культур на 27—70%. Борьба с вирусами, поражающими культурные растения,— мощный резерв подъема урожайности.

Экскурсия вторая ОРУЖИЕ УЧЕНЫХ (Инструменты науки)

В каждом положении отыщется что-нибудь утешительное, если хорошо поискать.
Даниель Дефо

Немного истории

Биологии всегда была свойственна тенденция к синтезу методов. Наглядным примером этого служит вирусология — одна из самых молодых биологических наук, ровесница XX века.

Случилось так, что вирусология отпочковалась от микробиологии и первое время основные вирусологические исследования были связаны с практической медициной, где роль вирусов особенно значительна.

Вскоре обнаружилось, что микробиологическая техника лишь частично могла быть использована при работе с вирусами. Справедливости ради отметим, что такие общие подходы, как использование правил асептики, получение чистых линий, методы титрования и, наконец, вакцинация, послужили методологической основой для развития вирусологии. Изучение наиболее кардинальных свойств вирусов заставило ученых развивать собственные вирусологические методы. Так, способность вирусов проходить через бактериальные фильтры стала использоваться для определения размеров вирусов (метод ультрафильтрации) и их очистки. Дальше — больше: малые размеры вирусов потребовали разработки более совершенных методов микроскопии (электронный микроскоп).

Неспособность вирусов размножаться на искусственных питательных средах явилась стимулом для разработки «естественных» источников питания. Вначале это были экспериментальные животные, а позже куриные эмбрионы и культуры клеток.

Изучение состава вирусов потребовало широкого использования арсенала химических методов.

Последовательное открытие вирусов, поражающих растения, животных, человека и бактерии, позволило сформулировать общий вывод о существовании особого царства вирусов, представители которого обладают только им

присущими отличительными свойствами, о которых мы уже говорили выше.

В процессе поступательного развития вирусологии происходило накопление информации о месте вирусов в природе и их роли в эволюции органического мира.

Развитие вирусологии как науки прошло со времени открытия вирусов Д. И. Ивановским три основных периода, каждый из которых занял в среднем по два десятилетия.

Первый период был связан с открытием вирусов и доказательством их автономности и многообразия.

Именно тогда были разработаны методы выделения, накопления и идентификации вирусов и высказаны основные гипотезы об их происхождении и природе. В конечном итоге основным результатом этого периода было становление вирусологии как самостоятельной науки с собственным арсеналом методов и объектов исследования.

Второй период ознаменовался открытием основных групп вирусов, дальнейшим расширением арсенала вирусологических методов и установлением роли вирусов в патологии. Для этого этапа был характерен организменный уровень исследований (экспериментальные животные), вследствие чего полученные данные имели в основном описательный характер. К концу периода было предложено применение куриных эмбрионов, что определило переход к следующему этапу.

Третий период связан с переходом на клеточный уровень исследований и расширяющимся применением в вирусологии культур клеток и тканей. Это не только позволило вплотную подойти к изучению фундаментальных закономерностей размножения вирусов, но и определило качественный скачок в ряде прикладных аспектов вирусологии (диагностика вирусов, открытие новых для науки аденовирусов, вирусов ECHO и др., разработка новой технологии приготовления вирусных вакцин, открытие интерферона и т. д.).

С 50-х годов начался четвертый период, который может быть назван молекулярно-биологическим. Вирусы теперь заняли важное место в общей системе биологических знаний. Было наконец установлено, что структура и организация вирусов находятся на макромолекулярном уровне, причем они представляют собой целостную и сохраняющуюся величину с постоянными параметрами.

По сути дела, ни одно великое открытие в биологии последнего времени не было сделано без прямого или косвенного использования вирусов.

К настоящему времени вирусы как объект исследования изучены достаточно детально, а сама вирусология превратилась в отрасль знания, хорошо вооруженную технически и широко применяющую методы химии, микробиологии, цитологии, биофизики, генетики, молекулярной биологии и других биологических дисциплин. Это, в свою очередь, определяет стремительные темпы развития вирусологии.

Будучи с первых шагов своих наукой экспериментальной и развиваясь на базе более «старых» биологических наук, учение о вирусах проделало быструю эволюцию от незнания к знанию. Вирусы в силу сравнительной своей простоты организации с 50-х годов стали играть роль тончайших инструментов в изучении наиболее фундаментальных общебиологических проблем: структура гена, генетический код, передача информации, закономерности биосинтеза нуклеиновых кислот и белков, обратная транскрипция и т. д.

Системность организации вирусов и отличие их структурных компонентов — белков и нуклеиновых кислот — от соответствующих структур клетки дают возможность изучать закономерности биосинтеза вирусных компонентов и воспроизводства родительских структур. Нельзя не согласиться со Стенли и Вэленсом в том, что «...вирусы дают нам единственный в своем роде ключ к пониманию функции нуклеиновой кислоты, а возможно, и к пониманию природы самой жизни».

Если учесть существующий научный потенциал и темпы вирусологических исследований, то в последней четверти XX века можно ожидать значительного увеличения объема знаний в этой области.

На страницах этой книги уже обсуждались наиболее важные направления теоретических и прикладных исследований. Здесь же нам хотелось подчеркнуть, что, с одной стороны, развитие вирусологии теснейшим образом связано с другими науками, решение большинства вирусологических проблем проводится комплексно; с другой стороны, прогресс в смежных вирусологии областях, особенно при изучении таких фундаментальных вопросов, как структура и биосинтез макромолекул, хранение и передача генетической информации, регуляция процессов

транскрипции и трансляции и т. д., как правило, благотворно и очень быстро сказывается на вирусологии. В качестве примера эволюции вирусологических знаний можно привести 20-летнюю историю изучения интерферона — одной из самых интересных проблем общей вирусологии.

Явление интерференции (взаимного подавления) вирусов было впервые обнаружено в 1937 году. Однако механизм его оставался неясным до 1957 года, то есть до наступления клеточного этапа в развитии вирусологии.

По сути дела, обнаружение интерферона было чуть ли не последним крупным открытием, сделанным с помощью чисто вирусологической техники. Однако чтобы ответить на вопросы: что такое интерферон, как он образуется и действует, необходимо было широкое привлечение химических, цитологических и генетических исследовательских методов.

От ванны до синхрофазотрона

Впервые прикасаясь к неведомому, ветхозаветный Адам пользовался весьма примитивными методами исследования. Каких-либо приборов или инструментов у него не было даже в проекте. Предмет исследования оказался горьким, да и весь эксперимент прошел, мягко говоря, не очень удачно, хотя имел далеко, весьма далеко идущие последствия.

Оснащение древних лабораторий не отличалось сложностью. Архимеду, для того чтобы открыть закон, который на тысячи лет прославил его имя, потребовалась всего лишь наполненная водой ванна. Ньютон, согласно легенде, как и Адам, обошелся яблоком.

С тех пор многое изменилось, и поразительного успеха в своем развитии человечество добилось в значительной степени благодаря изобретению совершенных методов исследования.

Ученые XX века, чтобы дотянуться до плодов древа познания, должны иметь мощный арсенал машин, приборов, аппаратов, обеспечивающих необходимые методические условия. Человек конструирует космические корабли и синхрофазотроны. Он добился предельной точности в измерении непостижимо малых отрезков пространства и времени. Изобрел электронные микроскопы, дающие увеличение, которое позволило бы пассажиру рейсового самолета Москва—Владивосток без труда читать разло-

женную на земле газету. Создал материалы, из которых можно изготовлять искусственные суставы, кровеносные сосуды, почки, легкие, сердце. Он научился в лабораторных условиях выращивать живую ткань высокоразвитых организмов.

Хотя вирусология отпочковалась от микробиологии, для изучения вирусов пришлось создать новые оригинальные методы. Теперь-то мы знаем, что вирусы нельзя видеть в обычные микроскопы — они очень малы; вирусы не растут на искусственных питательных средах — они чересчур разборчивы в пище. Обычный мясной бульон, который устраивает большинство бактерий, для вирусов не годится. Им нужны живые клетки, и не любые, а строго определенные. Вначале, у самых истоков вирусологии, все это еще не было известно, и, естественно, для изучения вирусов были использованы основные идеи микробиологии. Но вскоре обнаружилось, что большинство методов, подходящих для изучения бактерий, в вирусологии неприменимы. В целом это было плохо, но «нет худа без добра». Оказалось, что ряд используемых в отношении микробов манипуляций позволяет отделить вирусы от микробов. Поясним это простым примером. Предположим, вы столкнулись с явно инфекционным заболеванием, таким, как грипп, корь, желтая лихорадка, бешенство, и вам никак не удается увидеть под микроскопом или вырастить на искусственных питательных средах возбудитель. Тогда вы вправе думать, что эту болезнь вызвал вирус. Это рассуждение методом исключения или доказательство от противного. Но есть и старое прямое доказательство.

Ученик Луи Пастера Шамберлан в 1884 году придумал фильтр из глины для задержки бактерий. По виду фильтр напоминал свечу, и поэтому он получил название «свеча Шамберлана». Существует много способов стерилизации материала. Их цель — убить бактерии. Для этого годятся прокаливание, кипячение или обработка паром под давлением в специальных герметически закрываемых котлах (автоклавах). Так до сих пор обрабатывается операционный и перевязочный материал. Но все эти методы не годятся для стерилизации биологических жидкостей, содержащих белки и витамины. А свечи Шамберлана пропускают жидкость, но задерживают бактерии. Значит жидкость, прошедшая через фильтр, становится стерильной? Да, если она не содержит вирусы. В этом суть открытия Ивановского. Сказывается различие в размерах. Вирусы

мельче бактерий приблизительно в 100 раз. Никто из разумных людей не станет пытаться протолкнуть в игольное ушко апельсин или даже горошину, а нитка проходит через нее свободно. Примерно та же ситуация складывается и в случае с фильтрованием через свечи.

Технический арсенал вирусологии обогащался постепенно, и каждое техническое новшество влекло за собой скачок в развитии нашей науки.

Электронные микроскопы высокой разрешающей способности, дающие возможность увидеть молекулы биологических полимеров — нуклеиновых кислот и белков; ультрацентрифуги, ускоряющие движение частиц до 200 тысяч ускорений силы тяжести и позволяющие таким путем разделить смесь частиц и молекул, имеющих разную величину, форму и плотность; радиоактивные изотопы, позволяющие пометить отдельные молекулы и измерить их количество, выражающееся миллионными долями грамма,— все эти и многие другие прецизионные (сверхточные) методы и сложные приборы пришли в вирусологию и дали ей новый толчок для развития. В течение двух десятков лет мы узнали больше о природе вирусов, нежели за предыдущие 60 лет со времени открытия первого вируса.

Но и вирусология не осталась в долгу...

Ученым совместными усилиями удалось измерить и взвесить вирусы, определить их химический состав, закономерности размножения, место в природе, роль в возникновении болезней, а также разработать эффективные методы борьбы с вирусами и даже получить пользу от некоторых из них.

Чтобы проделать всю эту работу, потребовалось придумать методику вирусологических исследований и довести ее до филигранного мастерства. У вирусологов прошлого были очень ограниченные возможности для проведения исследований: бактериальные фильтры да лабораторные животные, которым вводили подозрительный материал, а затем по картине заболевания судили, какой вирус его мог вызвать. Больных животных забивали, пораженные органы растирали, фильтровали и вводили здоровым животным. Подобные многодневные, трудоемкие, дорогие и порой опасные эксперименты могли дать лишь очень ограниченную информацию о вирусах.

Поворотным моментом стало использование куриных эмбрионов для размножения и выделения вирусов. Как

известно, для появления из яйца цыпленка требуется 21 день. В эмбрионе есть все необходимое, чтобы из зародыша в столь короткий срок развился полноценный организм. Большинство вирусов такая пища вполне устраивает. Они прекрасно размножаются в куриных эмбрионах, накапливаясь порой до значительных количеств. Например, некоторые гриппоподобные вирусы достигают количества, равного одному миллиарду частиц в кубическом сантиметре. Это действительно фантастическая цифра, если учесть, что каждая частица из этого миллиарда может вызвать заболевание.

Однако куриные эмбрионы оказались подходящей пищей далеко не для всех вирусов.

Поиски продолжались.

Что стоит бессмертие?

Впервые в конце XIX века русский ученый Скворцов, а затем в начале нашего столетия англичанин Каррел доказали возможность поддержания жизни тканей вне организма при условии своевременной подачи питательных веществ и кислорода и удаления продуктов дыхания и обмена. Первые результаты казались скорее курьезными, чем перспективными, и были встречены скептически. Культуре клеток вне организма предстояло пройти длинный путь развития и доработок, пока ее значение не выявилось в полной мере.

Антибиотики помогли отвести от клеточных культур постоянную угрозу бактериального заражения и тем самым способствовали превращению клеточных культур в метод, который сегодня используется в биологии едва ли менее широко, чем электронные вычислительные машины в математике.

Вначале эта работа не имела никакого отношения к вирусологии. Целью ее было увидеть под микроскопом, как живут и размножаются клетки, как они осуществляют свои функции, как реагируют на разные воздействия — словом, это была попытка смоделировать жизнь в пробирке. Задача оказалась непростой, и работа продвигалась крайне медленно.

Во-первых, для поддержания жизни клеткам требовались питательные среды очень сложного состава. Они должны были содержать комбинацию солей, аминокисло́ты, витамины и ряд других компонентов.

Во-вторых, клетки могли расти лишь в условиях полной стерильности. До появления антибиотиков решить эту задачу было непросто. Чтобы уберечь клетки от множества бактерий, приходилось фильтровать среды, стерилизовать воздух, кипятить инструменты. Работа проводилась в специальных, герметически закрывающихся боксах — словом, делалось все для асептики. Если перефразировать слова поэта, эта титаническая работа напоминала добычу радия — «в грамм добыча, в год труды». Каждый шаг вперед давался годами поисков. Лишь через 30 лет после начала исследований ученые научились поддерживать жизнь в пробирке длительный срок.

Как это делается? Ткани живого организма обладают тонкими и безотказно регулируемыми системами, поддерживающими постоянство внутренней среды, в которой существуют клетки. Значительно труднее создать подобные однородные условия искусственно. Возникает множество противоречивых проблем. Например, чтобы питание клеток было равномерным, их надо разделить, распределить отдельными единицами, имеющими одинаковый доступ к питательной среде, в то же время клетки необходимо объединить, так как хорошо известно, что наиболее жизнеспособное сообщество — это популяция клеток.

Не будем утомлять читателя длинным описанием кропотливого труда, в результате которого были найдены сложные составы питательных сред, пределы температуры, концентрации солей и водородных ионов и пр., в которых только и могут существовать культивируемые клетки. Есть разновидность коктейлей, называемых «боулс». Говорят, что эти коктейли сперва надо нагреть, чтобы потом охладить; закрепить, чтобы разбавить; подсластить, чтобы примешать горечь. Нечто похожее происходит и при культивировании клеток.

Источниками клеток служат живые ткани, которые расщепляют на отдельные клетки, обрабатывая ферментами. Клетки перемешивают в питательной среде и помещают в плоские стерильные, герметически закрытые сосуды — так называемые «матрасы», на дно которых они постепенно оседают. Осевшие клетки распластываются по стеклу, объединяются друг с другом, начинают делиться и вскоре образуют на поверхности стекла сплошной слой живой ткани толщиной в одну клетку. Когда клетки полностью покроют все дно сосуда, их снимают со стекла, переносят в два новых стерильных «матраса», добавляют

свежей питательной среды, и все начинается сначала. Этот процесс называется пассированием, перевиванием клеток.

Как долго можно повторять эту операцию? Всегда ли пассирование клеток происходит так просто и без осложнений? На эти вопросы мы ответим несколько позже.

Перевиваемые клетки и рак. Средняя продолжительность жизни человека в ряде стран 70 лет. Случается, что он живет и дольше. А вот клетки, размножающиеся в искусственных условиях, остаются жизнеспособными в течение сколь угодно долгого времени. Не говорит ли это о том, что в лаборатории для жизни клеток созданы условия более оптимальные, чем в живом организме? Этот на первый взгляд абстрактный вопрос наталкивает нас на рассмотрение весьма своеобразных сторон в поведении культивируемых клеток.

Оказалось, что после 12—13 пассажей клетки, полученные из живой ткани, резко снижают жизнеспособность, большинство их гибнет.

При исследовании злокачественных опухолей (причин возникновения, свойств, методов лечения) культуры клеток — как нормальных, так и переродившихся — применяются очень разносторонне. Трудно представить более удобную модель для изучения особенностей обмена опухолевых клеток, исследования механизмов канцерогенного действия вирусов, радиации, некоторых химических веществ, испытания противораковых препаратов.

Корма для вирусов. Поскольку для вирусов нужны живые клетки, а их удается получать в пробирке, возникла естественная мысль заразить эти клетки вирусом. Вирусы согласились на такую пищу. Это была победа, но дорогой ценой, и в сущности первое время она не имела преимуществ перед работой с куриными эмбрионами. Надо было изобрести что-то другое. И это было сделано в начале 50-х годов нашего века.

Клетки научились культивировать, как микробы — в любом количестве и с гарантированным успехом. Метод назвали культурой ткани. Сейчас он настолько общепринят, что трудно поверить в столь долгий и сложный путь.

Под микроскопом хорошо видны отдельные клетки (рис. 8 на вкладке), содержащие характерные компоненты (ядрышки, ядра, цитоплазму, оболочки). Если такие клетки заразить вирусом, то в зависимости от того, какой вирус взят, через определенное время можно наблюдать

или гибель клеток, или слияние клеток с образованием гигантской многоядерной структуры. В некоторых случаях наблюдается злокачественное перерождение клеток, о чем мы уже упоминали и подробно поговорим в специальной главе.

Совершенно естественно, что метод культур клеток произвел революцию в вирусологии. Он позволил проводить эксперименты на уровне клеток, дал возможность непосредственно наблюдать разрушительное действие вирусов. Метод позволил открыть новые, доселе неизвестные вирусы и, что, наверное, самое важное, с помощью культур клеток стало возможным начать изучение главнейшей проблемы вирусологии — проблемы взаимоотношений вируса и клетки.

Здесь уместно снова напомнить, что вирусы невидимы. Об их существовании можно судить лишь по тем следам, которые они оставляют. Строго говоря, основной след, или, правильнее, результат деятельности вирусов — это болезни, которые они вызывают. Во многих случаях болезни приводят к гибели зараженного организма. Этот процесс легче всего наблюдать в культуре клеток. Зараженные и погибшие клетки отличаются под микроскопом от нормальных. Собственно, на этом и основано определение количества вирусов.

Волонтеры. В 1949 году, за год до появления работ американского вирусолога Эндерса, положивших начало перевороту в вирусологии, было известно всего 80 специфически человеческих вирусов, сейчас их более 500.

Выделение новых вирусов — только начальный этап борьбы человека с вирусными инфекциями. Гораздо бóльшие последствия имело применение культур клеток для получения противовирусных вакцин. Большинство вакцин против вирусных заболеваний в наши дни производят, используя культивируемые вне организма клетки. Эпопея борьбы с полиомиелитом, о которой мы уже рассказывали, разработка тканевой противополиомиелитной вакцины оказались для вирусологов настоящей школой работы с культурой ткани.

Изучая возбудителей заразного насморка, англичане поставили множество опытов на добровольцах из числа военнослужащих. Однако трудно найти желающих испытать на себе действие вирусов желтой лихорадки, бешенства, клещевого энцефалита. А как раз часто возникает необходимость проводить исследования именно на чело-

Первооткрыватель вирусов Дмитрий Иосифович Ивановский.

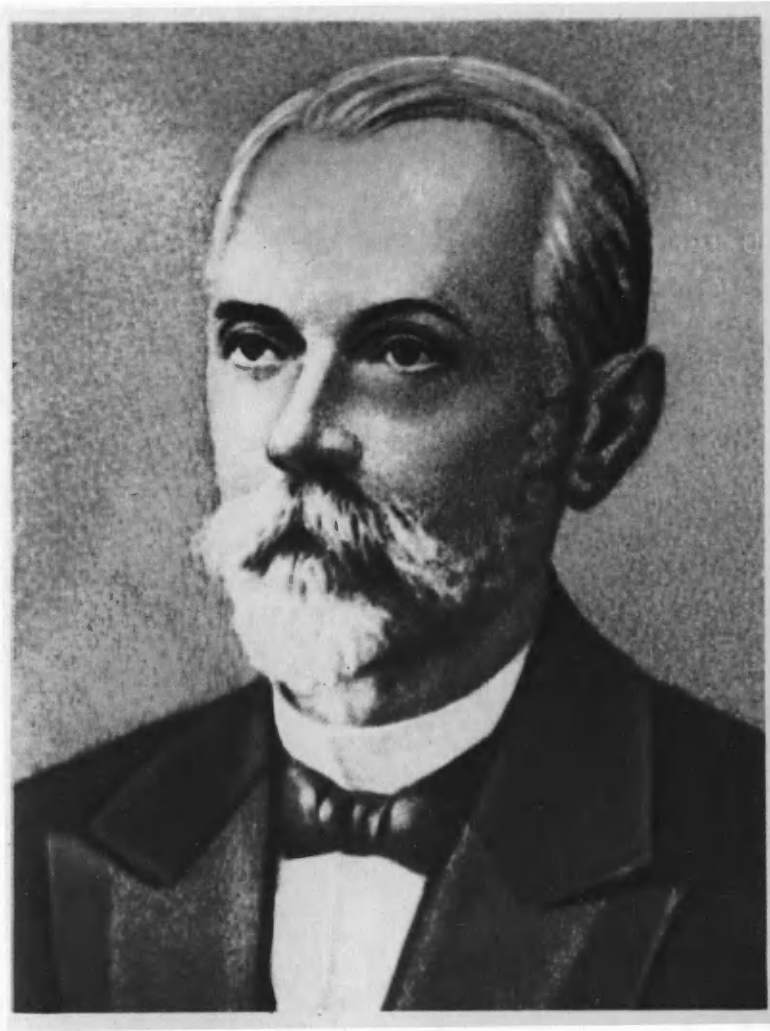


Рис. 2. Комплементарность двухнитчатой ДНК. Ц, г, а и т — азотистые основания: цитозин, гуанин, аденин и тимин

Рис. 4. Основные типы симметрии вирионов:
А — схематическое изображение вируса табачной мозаики, имеющего спиральный тип симметрии;
Б — кубический тип симметрии. Изображение икосаэдра, рассматриваемого с трех осей симметрии

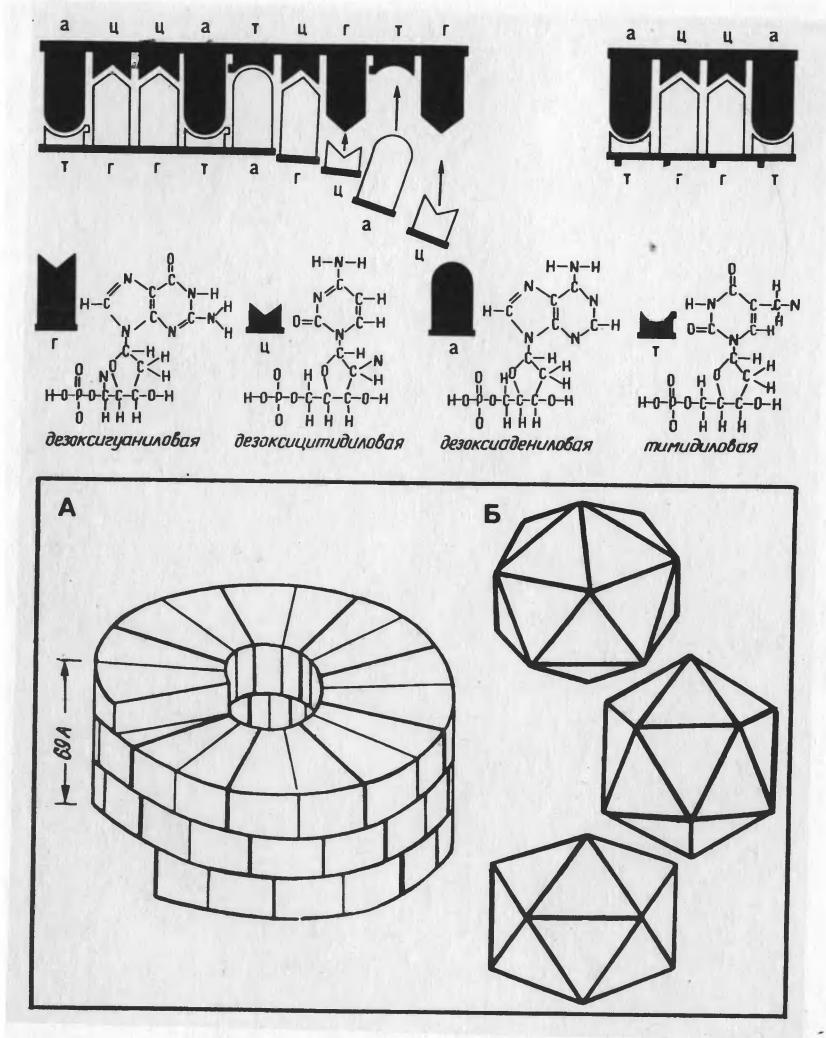


Рис. 5. Схематическое изображение строения основных вирусов, поражающих человека и животных. Слева представлены ДНК-содержащие вирусы: оспы (*1*), паравакцины (*2*), герпеса (*3*), аденовирус (*4*), паповавирус (*5*), пикорнавирус (*6*); справа — РНК-содержащие вирусы: гриппа (*7*), парагриппа (*8*), везикулярного стоматита (*9*), реовирус (*10*), эпидемического энцефалита (*11*), полиомиелита (*12*)

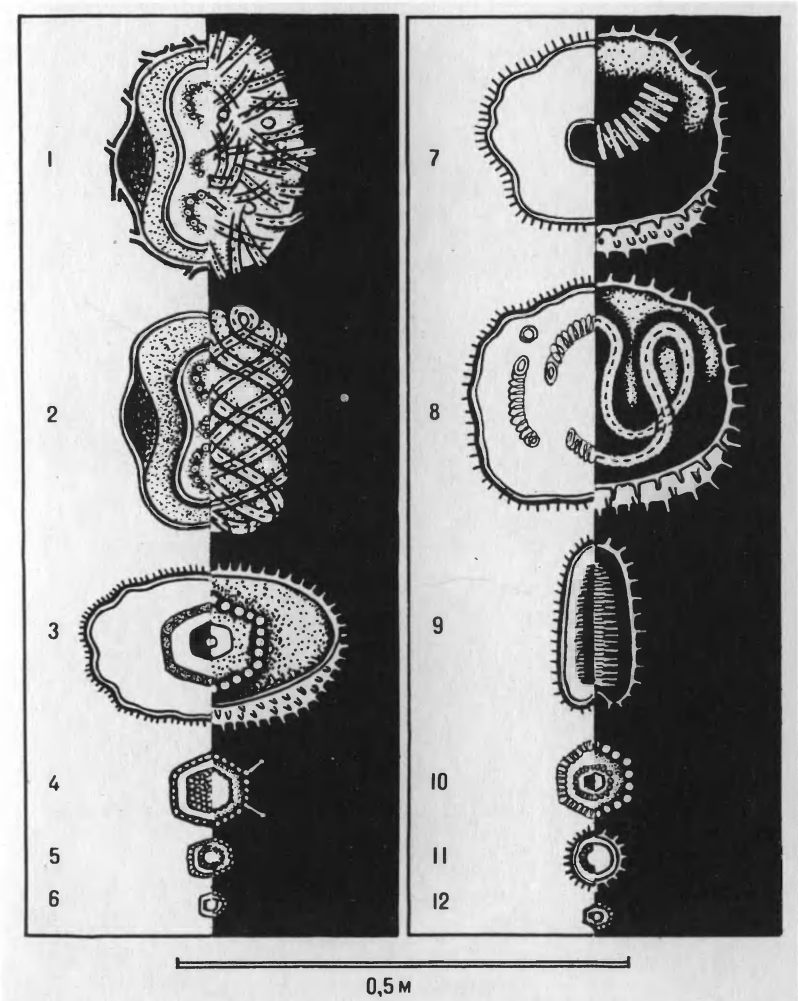


Рис. 6. «Портреты» (электронно-микроскопические фотографии) вирусов различных типов строения:
А — вирус табачной мозаики со спиральным типом симметрии; *Б* — реовирус с кубическим типом симметрии; *В* — аномальные формы вирусов; *Г* — сложно устроенные вирусы гриппа (*1*), оспы (*2*) и фаг (*3*)

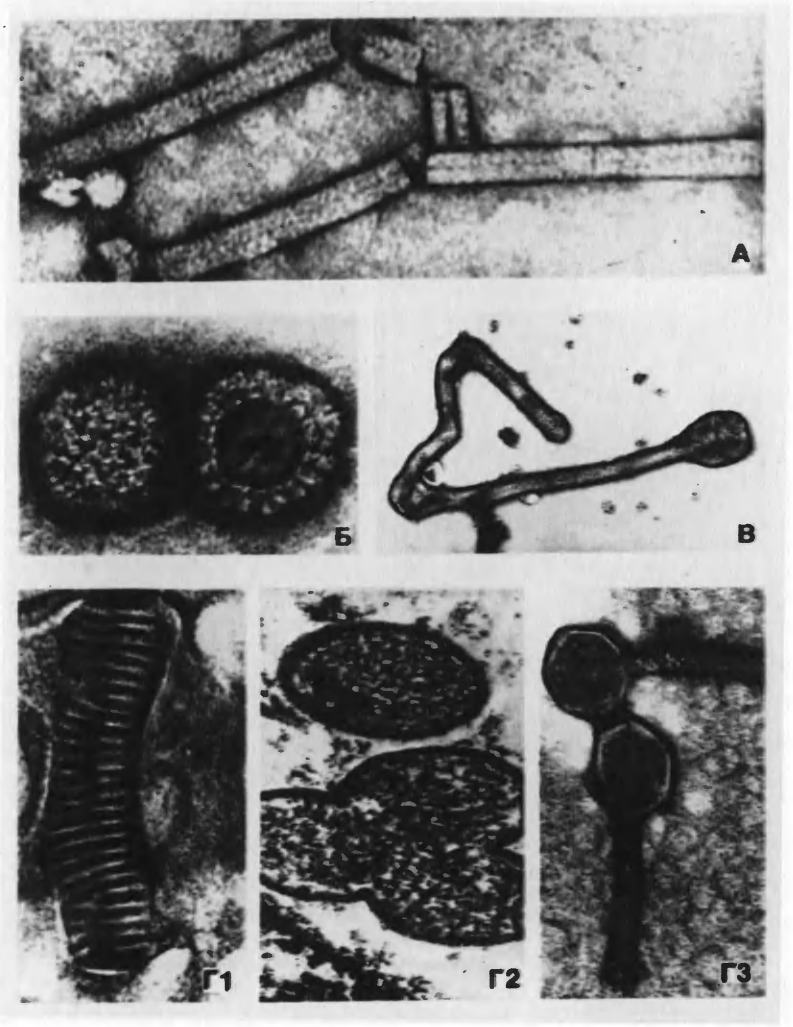


Рис. 8. Так выглядят клетки под оптическим микроскопом при увеличении приблизительно в 1000 раз

Рис. 9. Негативные колонии (бляшки) различных вирусов, полученные в однослойных культурах клеток куриного эмбриона: *А* — бляшки одного из арбовирусов (вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей); *Б* — бляшки, образуемые вирусом гриппа

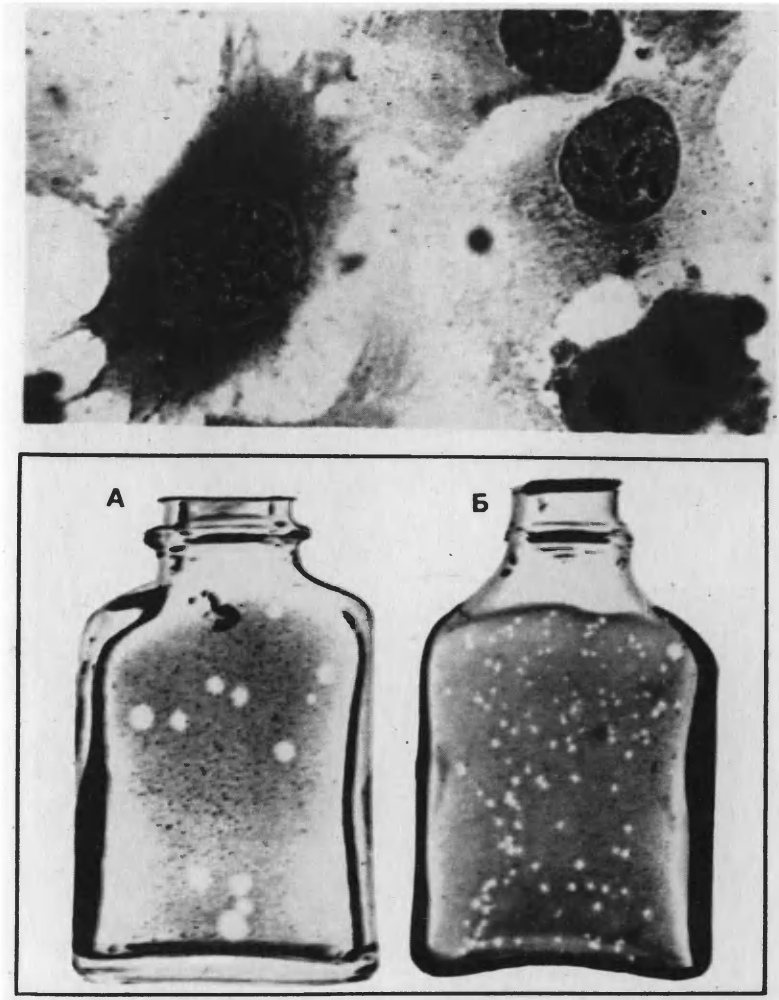


Рис. 10. Современная суперцентрифуга, используемая для препаративных целей; *1* — горизонтальный (бакет) и *2* — угловой роторы; *3* — общий вид

Рис. 11. Цитопатическое действие вирусов в клеточных культурах: *1* — нормальные клетки; *2* — те же клетки через 18 часов после заражения вирусом полиомиелита. Произошло тотальное разрушение клеток. Снимок *3* демонстрирует защитное действие интерферона: та же культура за сутки до заражения вирусом обработана интерфероном; признаков гибели клеток в этом случае не отмечено

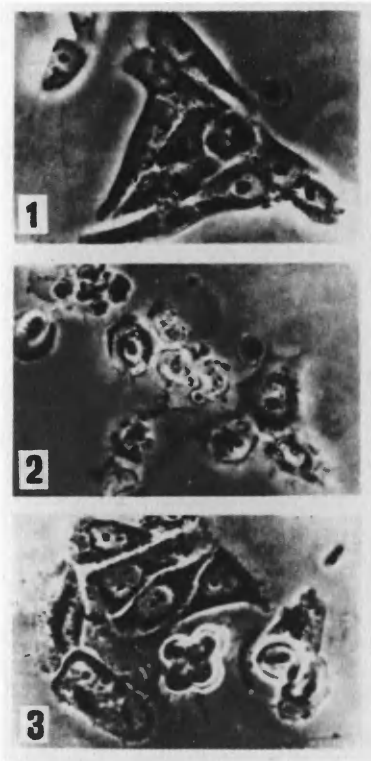


Рис. 12. Образование симпластов в клеточных культурах, зараженных вирусом парагриппа: *1* — нормальные клетки; *2, 3* и *4* — те же клетки через 30, 60 и 90 минут после заражения

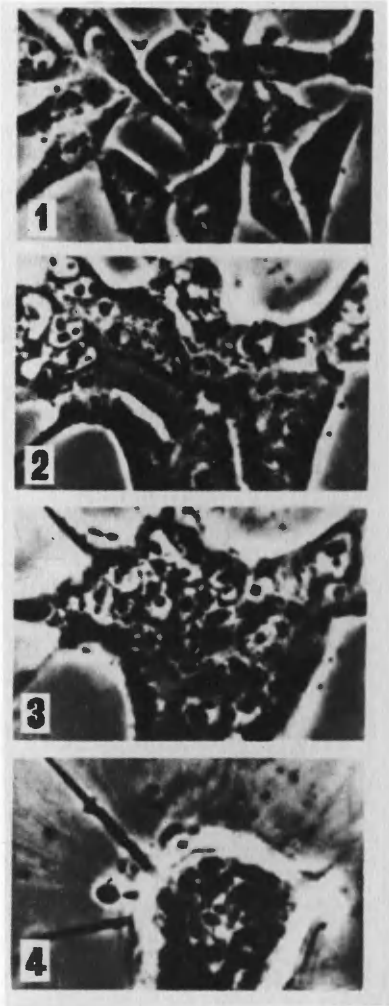
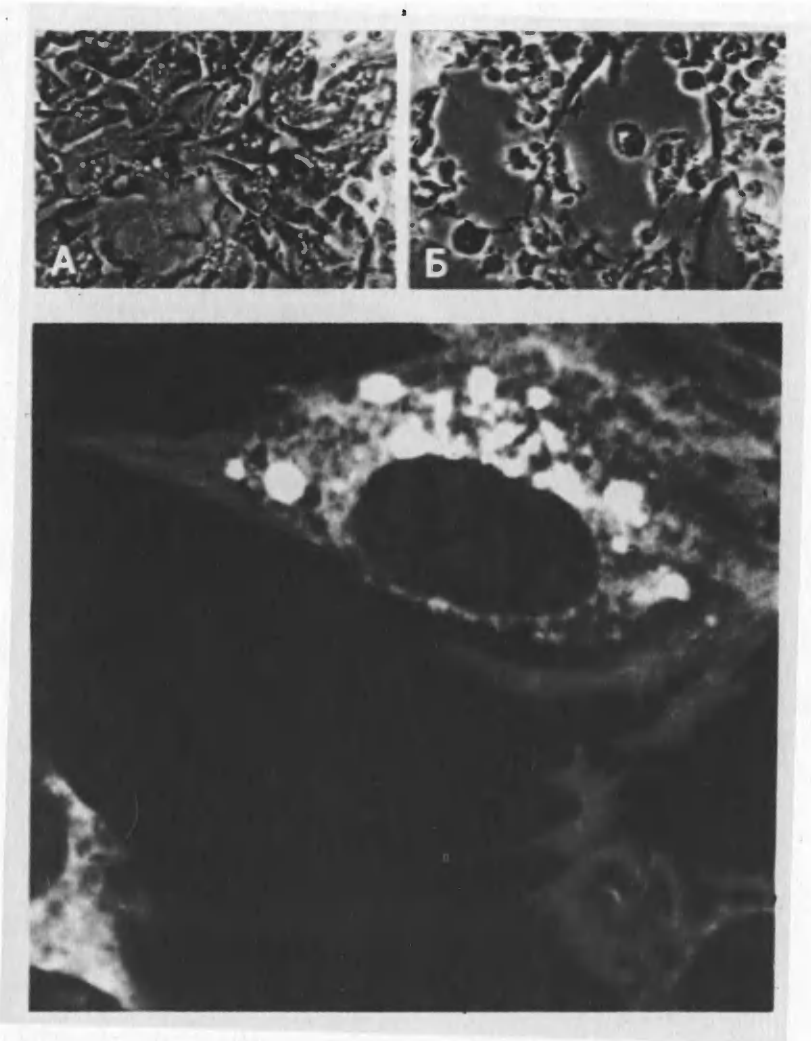


Рис. 15. Клетки *HeLa* до заражения (*А*) и через 20 часов после контакта с вирусом энцефалита (*Б*)

Рис. 17. Клетка, зараженная вирусом оспы. В цитоплазме ярко флуоресцирует вирусный антиген



веческих клетках. Культуры человеческих клеток в таких случаях незаменимы. Мириады искусственно выращиваемых живых клеток помогают вирусологам вновь и вновь проникать в тайный мир смертельно опасных невидимок.

Клеточные плантации и заводы. Ихтиологу или ботанику достаточно бывает нескольких редких экземпляров рыб или растений для того, чтобы составить сравнительно полное представление об их строении, образе жизни, физиологии. Совсем по-другому стоит вопрос, если вы занимаетесь изучением вирусов. Специфическая особенность вирусологии заключается в необходимости постоянно работать с массами вирусных частиц, с вирусными популяциями. Получение объекта исследования — это для вирусолога сложная, а иногда просто неразрешимая задача.

Между тем ее решение особенно актуально в наши дни, когда требуются все новые и новые вакцины, когда коренным образом изменился уровень вирусологических исследований. Применение современных физических и химических методов молекулярной биологии заставляет искать пути получения массовых количеств очень чистого вирусного материала. Один кубический миллиметр — не слишком много для подробного биохимического исследования, но несложный подсчет показывает: чтобы получить такое количество вируса, необходимо не меньше 10 миллиардов высокопродуктивных клеток.

Легче, если необходимо иметь большую массу вирусов растений,— тогда каждый лист восприимчивого и соответствующим образом зараженного растения превратится в фабрику, производящую вирусные частицы. В конце концов, для производства вирусов можно иметь целую плантацию. Много сложнее, если надо размножить вирусы животных и человека.

Проблема производства вируса превращается в проблему производства клеток. В настоящее время ученые умеют успешно и в больших масштабах культивировать клетки различных животных и человека. Выращиваются настоящие небольшие «поля» живых клеток, заключенные в стерильные сосуды с питательной средой и дающие «урожай» вирусов. Таким образом получают большинство вирусных вакцин.

Но для получения живых клеток в промышленных масштабах культуры на поверхности стекла оказались недостаточно производительными. Ученые искали новые пути, новые способы культивирования клеток.

Принцип решения задачи был подсказан природой. Если в брюшную полость мыши ввести особые злокачественные раковые клетки — клетки асцитной карциномы, то уже через несколько дней вся брюшная полость животного будет заполнена густой взвесью безудержно размножающихся клеток. Оказалось, что некоторые другие клетки могут расти во взвеси и вне организма, в искусственных условиях. Вот он путь — взвесь неудержимо делящихся клеток. Здесь в слове «неудержимо» и решение проблемы, и... опасность, но об этом позже.

Пока предстояло смоделировать «мышку», построить, испытать и запустить в производство. Только вот объемы ее надо было сделать отнюдь не мышиные — литры и десятки литров.

Реакторы, рожденные совместным трудом биологов и конструкторов, воистину воспроизводят многие функции живого организма. В них работают: искусственные сердца, перегоняющие растворы, перемешивающие клеточную живую взвесь; искусственные легкие, то есть системы, которые обеспечивают регулируемую подачу газовой смеси; питательные системы, терморегулирующие системы, автоматические электронные системы — мозг и нервы установок,— сложный комплекс, призванный создать и длительно, неделями и месяцами, сохранять уникальные условия, в которых только и возможно это буйство живой ткани. Не будет преувеличением сказать, что поддержание таких условий не менее сложно, чем балансирование на острие ножа.

Создание реакторов для культивирования клеток во взвешенном состоянии дало в руки биологов миллиарды клеток, размноженных вне организма, то есть вплотную подвело к массовому производству вирусных препаратов.

У клеток есть злейший враг — особые микроорганизмы, о которых мы уже упоминали,— микоплазмы. Загрязняя культуру клеток, микоплазмы снижают «урожай» вирусов, часто просто убивают клетки и, что особенно нежелательно, могут попадать в вакцинные препараты.

Интересно, что по ряду свойств микоплазмы напоминают вирусы. Характерным в этом отношении служит пример изучения возбудителя атипичного воспаления легких. До последних лет возбудителями пневмонии считались исключительно различные виды бактерий. Безуспешные попытки выделить при атипичном воспалении легких микробов-возбудителей привели даже к появлению спе-

циального названия — абактериальной пневмонии. Подумывали и о вирусной этиологии заболевания. И только сравнительно недавно стало ясно, что виновник заболевания — микоплазма, ныне широко известный, особенно среди детских врачей, агент Итона.

Вакцины, вводимые людям, гарантированы от любых загрязнений, в частности и от загрязнений микоплазмами. Но добиться этого удалось после тщательного и кропотливого изучения микоплазм, их биологии и методов борьбы с ними. Кроме того, надо учесть что микоплазмы вызывают заболевания не только человека, но и сельскохозяйственных животных и птиц. Изготовление вакцин, которые используются в сельском хозяйстве, особенно нуждается в способах освобождения клеток от микоплазм.

Мы затронули лишь малую часть возможных путей применения клеток и тканей. В цитологии и генетике, в онкологии и биохимии, в вирусологии и ботанике метод культур клеток заложил основу для новой программы научных разработок, непосредственно касающихся вопроса сущности жизни. Рассуждая о выращивании клеток и тканей, мы не говорим о выращивании органов. Но мы и не говорим, что этого не будет никогда. Подобные утверждения сейчас опасны: не исключена возможность оказаться лжепророком. Данные некоторых экспериментов позволяют установить в так называемых органных культурах дифференцировку клеток внутри отдельных кусочков ткани. Дифференцировку, близкую к естественной и обусловленную, несомненно, свойствами живых клеток. Но это еще не изведанный плод древа познания, к которому тонкий и удивительный метод искусственного культивирования живых клеток только намечает трудный и долгий путь.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ОРУЖИЯ

Чудеса науки современной далеко превосходят чудеса древней мифологии.

Ральф Эмерсон

Как увидели невидимое. Приблизительно через 50 лет после того как вирусы уже были открыты и в существовании их никто не сомневался, ученым удалось впервые их увидеть. Здесь уместно вспомнить, что в случае с ближайшими соседями вирусов по микромиру — бактериями

все было наоборот. Сначала Левенгук увидел их и описал, а лишь гораздо позже началось их планомерное изучение. Как это было?

300 лет назад голландский продавец сукна Антони Левенгук сделал удивительное открытие, обессмертившее его имя. Этот упрямый человек имел одно, как теперь говорят, хобби. На досуге он упорно и настойчиво шлифовал стекла. Он мечтал изготовить увеличительное стекло такой силы, в которое можно было бы разглядеть самые крошечные частицы. Его труд увенчался блистательным успехом — он открыл неведомый доселе мир микробов. Первый шаг человека в микрокосмос был сделан. Перед пораженным взглядом первооткрывателя в простой капле воды возник удивительный и полный жизни сказочный мир.

«С величайшим изумлением,— писал Левенгук,— я увидел в капле великое множество мельчайших зверюшек, оживленно двигающихся во всех направлениях, как щука в воде. Самое мелкое из этих крошечных животных в тысячу раз меньше глаза взрослой вши».

А вирусы? Они так малы, что их уже нельзя сравнивать с чем-нибудь видимым. Вирусы измеряются специальной меркой, которая называется миллимикрометром. Миллимикрометр — это одна тысячная микрометра, а микрометр — одна тысячная миллиметра. Миллимикрометр настолько же меньше миллиметра, настолько миллиметр меньше километра! Предполагается, что с появлением более сложных организмов вирусы приспосабливались к росту и паразитированию в них. Так возникли вирусы, поражающие растения, бактерии, насекомых, птиц, млекопитающих, человека. Количество вирусов во много раз превосходит число всех растений и животных, вместе взятых. Существует, наверное, прямая зависимость между размерами организма и количеством его особей, населяющих нашу планету. Известно, что число людей в настоящее время составляет приблизительно 4 млрд. Такое количество вирусов без труда помещается в 10 каплях питательной среды и получить его в лаборатории не составляет труда. На конец иголки свободно размещается столько же вирусных частиц, сколько болельщиков на огромном стадионе во время встреч популярных футбольных команд.

Как мы отметили выше, долгое время о существовании вирусов судили только по тем изменениям или следам

разрушения, которые они оставляли. Ученые неоднократно пытались увидеть крошечных убийц под микроскопом, но увеличение в 1500 раз, которое можно получить с помощью обычного оптического микроскопа, было явно недостаточным. Увидеть вирусы оказалось возможным только с появлением специального электронного микроскопа, который позволил преодолеть барьер видимости. Вначале удалось определить точные размеры вирусов и их «внешний вид», а затем и изучить отдельные детали их строения.

Интересно, что подготовительная работа к электронной микроскопии занимает гораздо больше времени, чем сама микроскопия. Сначала нужно получить чистый концентрированный препарат вируса. Для этого вирусы «отмывают в семи водах» с помощью мощных суперцентрифуг и «чистят» в колонках с различными ионообменниками. Затем полученный вирус наносят на тончайшую сетку, покрытую пленкой коллодия или формвара, и «припудривают» очень мелкой металлической пылью, и только после этого препарат можно рассматривать под микроскопом.

Сейчас мы можем провести своеобразный «конкурс красоты» среди представителей царства вирусов. Увеличенные в десятки и сотни тысяч раз, вирусы поражают простотой и изяществом форм и законченностью отделки. Великая экономия природы сказалась в том, что в составе вирусов нет ничего лишнего.

Вирусная бухгалтерия. Как только ученые перестали сомневаться в существовании вирусов, тут же встал вопрос о подсчете вирусных частиц.

Однако считать сами вирусные частицы научились гораздо позже, после внедрения в вирусологию методов электронной микроскопии. Первые подсчеты касались чисто функциональных понятий и учитывали не сами вирусные частицы, а их активность.

Этот первоначальный путь оказался тем не менее очень эффективным, а главное, весьма полезным. Достаточно сказать, что и сейчас вирусологов гораздо больше интересует именно подсчет активности вирусов, чем точное знание числа присутствующих в тех или иных пробах физических вирусных частиц.

Понятно поэтому, что практически все методы подсчета вирусов — это методы определения той или иной их активности. Типы проявления активности различны. Это может

быть реакция типа «все или ничего», может учитываться время появления реакции на внесение вируса, например время появления у лабораторного животного симптомов заболевания. Можно подсчитывать и очаги поражения, индуцированные вирусом.

Мы уже говорили о том, что количественное определение вирусной активности называется титрованием вируса.

Методов титрования вирусов на сегодняшний день существует множество. Определяют способность вируса склеивать (агглютинировать) эритроциты (красные клетки крови), вызывать поражение клеточного пласта в пробирке, инфицировать организм мышей или других животных, заражать куриный эмбрион и т. д.

Наименьшее количество вируса, способное вызвать учитываемую реакцию, принимают за инфекционную единицу. Например, минимальное количество вируса, с которого начинается развитие инфекции в курином эмбрионе, называют ЭИ — эмбрион-инфицирующей дозой, а вызывающее поражение клеток в пробирке — ТЦПД — тканевая цитопатогенная доза, и т. п.

Инфекционная единица и вирусная частица — это, как установлено, далеко не одно и то же. В зависимости от типа вируса одна инфекционная единица может содержать от нескольких вирусных частиц до десятков тысяч вирионов.

Широко используют вирусологи метод титрования вирусов при помощи подсчета очагов поражения, или, как его называют, метод бляшек под агаром.

Чтобы провести титрование по бляшкам, необходимо вначале получить на стекле стерильных флаконов клеточные культуры, как об этом рассказывалось ранее. Полученные клеточные поля заражают последовательными разведениями изучаемого вируса, то есть вносят все меньшие и меньшие его дозы.

В каждый флакон как бы направляется десант диверсантов. Опускаясь на клетки, вирусы тут же приступают к разрушительной работе, уничтожая гарнизоны клеток, обращая «в свою веру» клеточные молекулы и используя их для производства себе подобных. Вскоре вместо одного пришельца вырастают полчища диверсантов.

В зависимости от степени разведения в каждый флакон с культурой попадает различное число вирусных час-

тиц. В одни флаконы их вносят миллионы, в другие — тысячи, в третьи — единицы.

В обычных условиях вирусы, размножаясь, быстро поразили бы все клетки, если бы не хитроумный способ избежать этого. Клетки после заражения вирусом покрывают питательным веществом — агаром, которое, остывая, приобретает плотную консистенцию.

Теперь вирусы не могут беспрепятственно разгуливать по всей клеточной культуре, а вынуждены пробиваться от одного гарнизона к соседнему — от клетки к клетке. В том месте, куда попал вирус, образуется очаг поражения.

Через пару дней после заражения исследователь может выяснить картину безмолвной битвы, протекающей во влажной темноте нагретого до 37° термостата. С этой целью используют краску, которую способны воспринимать лишь жизнеспособные клетки. Очаги погибших клеток остаются неокрашенными, образуются бляшки — бесцветные очаги поражения.

В тех флаконах, куда были внесены миллионы вирусов, очаги поражения сольются в сплошной слой поражения. Там, где вирусных очагов немного, их можно подсчитать невооруженным глазом (рис. 9 на вкладке).

Обнаружение вируса, определение динамики его размножения, интенсивность инактивации вируса под влиянием дезинфицирующих веществ, уровень подавления вируса противовирусными препаратами — область применения описанной нами методики необычайно широка.

По характеру вызываемых поражений, по форме и размеру бляшек можно различать вирусы и вирусные штаммы. Более того, поскольку каждая бляшка есть результат развития одной-единственной инфекционной частицы вируса, можно получать чистые линии — потомство одной частицы, или, как его называют, клон.

С использованием методики бляшкообразования и клонирования были получены интереснейшие результаты по генетике вирусов. Ведь эта методика позволяет из громадной популяции вирусов, содержащей миллиарды частиц и подвергнутой действию какого-либо вещества, вносящего изменения в наследственную информацию (мутации), получить потомство уникального мутанта.

Так были получены многие вакцинные штаммы опасных болезнетворных вирусов. Выделенные из бляшек

мутанты оказались прародителями вакцин, защитивших тысячи и тысячи человек.

Любая серьезная наука начинается там, где возможен точный количественный учет. Бухгалтерия вирусологии постоянно развивается, приобретает новые направления, становится все более тонкой и точной. Радиоактивные изотопы позволяют переместить уровень подсчета еще глубже: уж до чего мелок вирус, но считают даже не его, а его молекулы, части этих молекул и даже скорость их образования.

Центрифужный парк. Надо сказать, что центрифуги используются не только для тренировки космонавтов. Центрифугирование — это главным образом способ разделения неоднородных смесей на составные части под действием центробежной силы, природа и физическая сущность которой известна каждому еще со школы. Правда, чтобы разделить и очистить крупные молекулярные и надмолекулярные образования, определить широкий спектр их характеристик, необходимы такие скорости вращения, при которых центробежная сила превышала бы земное тяготение в десятки тысяч раз. Для сравнения: 14—15 = = кратное превышение земного тяготения — почти предел для человека.

Устройства с такими гигантскими скоростями вращения называются ультра- или суперцентрифугами.

Ультрацентрифугирование давно применяется в молекулярной биологии. Лет 15 назад наряду с широким внедрением молекулярно-биологических методик в вирусологию в лаборатории вирусологов пришли и ультрацентрифуги.

Современные центрифуги — сложные и совершенные приборы, которые, помимо высоких скоростей вращения (а точнее говоря, именно для обеспечения их), могут создавать высокий вакуум, удерживать заданную температуру во время работы, автоматически выдерживают время и режим центрифугирования. Следует сказать, что на рис. 10 (вкладка) представлен общий вид ультрацентрифуги, а также ее наиболее важных рабочих деталей: роторов и центрифужных пробирок. Вирусологи наиболее часто используют роторы двух типов — угловые, позволяющие работать с достаточно большими объемами вируссодержащего материала, и горизонтальные, или, как их еще называют, бакет-роторы, которые используют для более тонких аналитических операций.

Линейная скорость на «ободе» ротора ультрацентри-

фуги превышает скорость полета пистолетной пули. В условиях когда однокопеечная монета весит больше центнера, масса вируса едва превышает одну десятитысячную микрограмма, тем не менее это уже позволяет осадить вирусы из раствора, а в дальнейшем очистить.

Вращение ротора позволяет получить в центрифужных пробирках ускорение силы тяжести, в сотни тысяч раз превышающее силу земного притяжения. Под действием чудовищной силы начинают «падать», оседать на дно пробирки не только клетки, клеточные компоненты, вирусы, но и молекулы. Причем скорость осаждения зависит от строго определенных параметров частиц и служит весьма стабильной характеристикой. Исследование этих седиментационных характеристик (седиментация — осаждение), седиментационный анализ — один из важнейших моментов изучения молекулярных механизмов взаимодействия вирусов с клетками.

Ультрацентрифужный метод применяется в вирусологии и для определения плотности исследуемых молекул, вирусов или вирусных компонентов. Дело в том, что частицы не всегда оседают при центрифугировании. Если их окружает среда с большей плотностью, чем они сами, то частицы будут всплывать. И тем скорее, чем выше скорость вращения и создаваемая сила тяжести.

В таком случае исследователь готовит в центрифужной пробирке перепад концентрации раствора, чаще всего сахарозы или солей тяжелых металлов, например хлорида цезия, получая так называемый градиент плотности. При ультрацентрифугировании изучаемый материал займет в этом градиенте место, соответствующее его плотности.

Плотностный и седиментационный анализы нашли широчайшее применение в вирусологии. Они позволяют легко и быстро разобрать клетку на составные части, легко и с высокой степенью очистки сконцентрировать практически любой вирус, разобрать его на составляющие молекулы и т. д.

Покажем это на одном примере. Долгое время исследователям не удавалось выделить и изучить онковирусы млекопитающих (подробнее об этих вирусах мы расскажем в экскурсии четвертой). Многие из них не обладают биологической активностью, обнаруживаемой экспериментально. Помогли ультрацентрифуги. Вирусологи исходили из того, что почти все представители этой группы вирусов имеют строго определенную плотность — 1,16—1,18 г/см^3.

Материал, в котором предполагали наличие онковирусов, центрифугировали в угловых роторах, чтобы осадить вирусы из большого объема — сконцентрировать их. Затем вирусный концентрат (пока только предполагаемый!) наносили на градиент плотности сахарозы и центрифугировали в горизонтальном роторе. Использование материала, предварительно меченного радиоактивным изотопом, показало: в области с плотностью 1,16 — 1,18 г/см^3 концентрируются некие частицы. Электронное микроскопирование материала из этой зоны плотности градиента сахарозы подтвердило: да, здесь концентрируются вирусные частицы с характерной только для онковирусов морфологией! Таким образом, в частности, были обнаружены и выделены онковирусы, которые рассматривались как вероятные кандидаты в возбудители лейкоза и некоторых злокачественных опухолей человека.

Вирусы и кино. Между одной из самых молодых биологических наук — вирусологией и кино установились «дружеские отношения». Но это произошло не сразу — до какого-то времени они развивались, не замечая друг друга.

Вирусы были открыты в 1892 году, а первый кинофильм со знаменитым поездом был показан тремя годами позже. Начало XX века ознаменовалось бурным развитием вирусологии и кинематографии.

Было обнаружено, что вирусы являются постоянными спутниками человека, животных, растений. Они образуют самостоятельное невидимое царство и отличаются ничтожными размерами и сравнительной простотой устройства. Было доказано также, что вирусы существуют за чужой счет и размножаются только внутри живых клеток, причем эти неблагодарные создания часто убивают тех, кто их кормит.

В это же время кинематограф (синематограф) из занимательного аттракциона превратился в самое массовое и важное искусство. Но этого мало: постепенно с развитием техники были обнаружены богатейшие возможности кинематографа. Оказалось, что с помощью кино можно «сжать» и «растянуть» любой процесс во времени. Если снимать какой-либо объект медленней обычного, а затем проецировать его с нормальной скоростью (24 кадра в секунду), то события, происходящие на экране, будут заметно ускоряться. Так, на глазах у зрителя в течение нескольких секунд из бутона распустится цветок, а нето-

ропливая улитка вдруг помчится со скоростью курьерского поезда.

Эти открытия вначале легли в основу различных кинотрюков, и лишь много позже их стали использовать для исследования медленно протекающих процессов. Однако прошло еще много времени, прежде чем серьезные люди, занимающиеся вирусологией, сообразили, что вирусы, этот капризный и неблагодарный объект, тоже могут стать героями фильмов. Это произошло в начале 50-х годов, когда с помощью кино ученые впервые попытались изучать вирусные заболевания клеток.

Раньше, чтобы ответить на вопрос, что происходит с клеткой, в которую проникли вирусы, необходимо было ставить серии очень кропотливых опытов. Сначала живые клетки — основную пищу вирусов — приходилось выращивать в сотнях пробирок, затем заражать вирусами. Это был первый этап работы. Дальше начиналось самое сложное. Через определенные промежутки времени зараженные клетки убивали, окрашивали и рассматривали под микроскопом. Просмотр большого числа препаратов позволял представить, какие изменения вызывают проникшие в клетку вирусы. Так по отдельным статистическим картинам складывалось представление о последовательности и продолжительности процесса взаимодействия вирусов с клетками. Способ не идеальный, что и говорить, но ничего лучшего не было.

А можно ли увидеть, как вирусы постепенно убивают и разрушают клетки в динамике, во всех деталях и подробностях? Вот здесь-то ученые вспомнили о кино. Что если в объектив микроскопа вместо глаза исследователя будет смотреть кинокамера? Ведь она может исправно заниматься трудным делом дни и ночи без перерыва. Для реализации идеи вирусологи в содружестве с инженерами должны были преодолеть целый ряд технических трудностей. Потребовалось изобрести электронное устройство для точной покадровой съемки, создать специальные стеклянные камеры для длительного прижизненного культивирования клеток, разработать новый способ микроскопии, позволивший изучать живые неокрашенные клетки (так называемый метод фазовоконтрастной микроскопии). После того как все это было сделано, кинематограф стали использовать для изучения медленно протекающих и неуловимых доселе биологических процессов.

Полученные результаты превзошли самые смелые ожидания. Микрокиносъемка помогла изучать основные особенности реакции клеток на воздействие вирусов. Взгляните на два кадра одного из научных фильмов об агрессивных свойствах вируса полиомиелита (рис. 11 на вкладке). На первом вы видите нормальные незараженные клетки, которые активно росли и делились в специальных условиях. Так было до встречи с вирусом. Вскоре после заражения клетки начинают сморщиваться и разрушаться, а через 18 часов на месте цветущей культуры можно обнаружить лишь бесформенные остатки погибших клеток или, образно говоря, кладбище клеток.

Подобная полная гибель зараженных клеток наблюдается далеко не всегда. В ряде случаев после внесения вирусов происходит скучивание и слияние клеток с образованием многоядерных структур, которые обычно называются симпластами. На кадрах из другого кинофильма (рис. 12 на вкладке) вы можете увидеть, как это происходит. Перед вами одна и та же группа клеток до встречи с вирусом парагриппа и через 30, 60 и 90 минут после заражения. Посмотрите внимательно: незараженные клетки лежат изолированно друг от друга, хорошо видны клеточные оболочки, через 30 минут после контакта с вирусом начинается слияние клеток: между соседними клетками образуются своеобразные перемычки и мостики, затем клеточные оболочки полностью исчезают и образуется симпласт, насчитывающий сотни ядер. Эта структура мало жизнеспособна, она быстро погибает и отрывается от стекла.

Есть вирусы, которые вызывают болезни клеток с длительным хроническим течением. Такие клетки долго выглядят здоровыми, они активно делятся и перемещаются. Затем можно наблюдать набухание ядер, замедление движений и постепенную гибель клеток. Все это хорошо видно на экране. С помощью кино можно наблюдать, как происходит злокачественное перерождение клеток после встречи их с особой группой опухолеродных вирусов. Для измененных клеток характерно стремление к бесконечному развитию и очень активному делению. Они наползают друг на друга, образуя очаги бесформенного роста. Такие же процессы, по-видимому, происходят и в организме при образовании опухолей.

Мы разобрали лишь некоторые результаты применения метода микрокиносъемки для изучения зараженных кле-

ток. Полученные кинодокументы убедительно разоблачают преступления вирусов и позволяют изучать их повадки.

Чрезвычайно полезная особенность метода в том, что он дает возможность последующего многократного просмотра отснятых опытов на экране. Это позволяет выявлять труднозаметные, но порой очень важные особенности процесса и устанавливать связь между ними во времени. Союз кино и вирусологии многое обещает в будущем!

Вирусные болезни и математический анализ. Мы уже не удивляемся, встречая, например, на одной странице термины «головная боль», «насморк», «хрипы в легких» в благополучном и плодотворном соседстве с понятиями «одномерные совокупности» или «разделяющая гиперплоскость n-мерного пространства».

Именно определение разделяющей гиперплоскости и составляет сущность метода дискриминантного анализа, примененного математиками в содружестве с вирусологами для дифференциального диагноза заболеваний детей, вызываемых вирусами парагриппа и аденовирусами.

Признаки острых заболеваний дыхательных путей, причиной которых являются названные вирусы, весьма сходны. Одни и те же симптомы врач обнаруживает как при парагриппозной, так и при аденовирусной инфекции. Правильный диагноз удается поставить на основании различия комбинаций многих признаков этих двух заболеваний.

Человек не в состоянии удержать в памяти все возможные в данных условиях комбинации, и поэтому встречаются ошибки, а правильное заключение дается зачастую лишь благодаря врачебной интуиции.

Необходим был совершенно новый подход к решению проблемы.

Ученые обследовали сотни больных. В каждом случае точный диагноз заболевания устанавливался на основе многочисленных и разносторонних исследований, в ходе которых требовалось выделить от больного вирус-возбудитель и доказать, что в течение болезни в крови человека накапливаются антитела именно к этому болезнетворному вирусу, что именно он — причина страдания.

Таким путем было отобрано по 100 совершенно достоверных случаев заболеваний детей парагриппом и аденовирусной инфекцией.

На следующем этапе предстояло выбрать из десятков разнообразных симптомов, встречающихся при обоих заболеваниях, те, которые помогли бы различить их

наилучшим образом. Таких признаков оказалось 38. Как в этой бесконечной комбинационной мозаике угадать расплывчатые очертания двух различных, а следовательно, требующих различного подхода, лечения, различных мер профилактики болезней?

На помощь современным асклепиадам пришли вооруженные вычислительными машинами современные пифагорейцы. Совокупность признаков, характеризующих парагрипп или аденовирусную инфекцию, была представлена как область в многомерном пространстве, в котором каждый признак располагается на своей оси координат.

Применение методов аналитической геометрии и математической статистики позволило не только найти числовую критическую характеристику, отражающую расположение гиперплоскости, которая разделяет в многомерном пространстве области, занятые каждой из изучаемых болезней, но и разработать метод ранней диагностики, удивляющий своей простотой и надежностью.

Абстрактность многомерного пространства была преобразована в конкретность математических оценок признаков, сведенных в диагностические таблицы. Эти разработанные совместными усилиями вирусологов и математиков диагностические таблицы напоминают анкеты и содержат вопросы, на которые врач должен дать обязательный ответ. Заключительная операция сводится к простому сложению нескольких чисел, сумма которых сравнивается с известным критическим значением, и безошибочный в большинстве случаев ответ готов, что особенно важно при первом обращении больного за помощью.

Врачи получили возможность в течение двадцатиминутного осмотра больного различать две эти очень схожие болезни с такой степенью точности, которая ранее достигалась лишь в результате длительного, многодневного наблюдения больного и применения многочисленных лабораторных вирусологических исследований.

Атомное оружие вирусологов. Как размножаются вирусы? Возьмем для примера самую простую группу вирусов — бактериофаги. Эти маленькие пожиратели бактерий размножаются очень быстро. Всего лишь несколько минут проходит от начала заражения бактерий до их гибели. Вместо одной проникшей в бактерии частицы вируса на свет появляется приблизительно 100 новых, или, как их называют, дочерних частиц. Итак, задача кажется

не очень сложной: надо выяснить, что происходит в зараженной бактерии. Но для этого приходится опускаться еще на одну ступеньку ниже и проводить исследование уже не на клеточном, а на молекулярном уровне.

На этом уровне объект исследования элементарнее: молекула не клетка, она на порядок проще. Стало быть, изучать ее легче. Легче-то легче, но как до нее добраться?

Зараженные клетки приходится препарировать, анатомировать, а их содержимое раскладывать по полочкам. Методы должны быть филигранными, так как сама работа порой напоминает поиски иголки в стоге сена (инородное в подобном) или, что еще сложнее, песчинки в куче песка (подобное в подобном).

Для этой работы очень пригодились радиоактивные изотопы. Их, как фонарики, подвешивают к вирусному белку или нуклеиновой кислоте, и они исправно сигнализируют о местонахождении вируса в зараженной клетке, его судьбе, скорости синтеза и других параметрах. Итак, современный этап вирусологии можно назвать молекулярно-биологическим.

В работе с вирусами широко используются методы биохимии и биофизики, радиоизотопная техника и электронная микроскопия. Вирусолог нового типа должен много знать и уметь. Помимо классической техники работы с животными или клетками, которая должна производиться очень аккуратно, так как с вирусами, как мы уже упоминали, шутки плохи, современный вирусолог обязан владеть обширным арсеналом методов, позволяющих изучать подчас уже не целый вирус, а отдельные его компоненты и не целую клетку, а ее составные части. Постановка опыта требует большой предварительной подготовки.

Предположим, вы решили определить, какова судьба вирусной нуклеиновой кислоты, проникшей в чувствительную клетку. Для этого вначале нужно получить вирус, у которого нуклеиновая кислота будет «помечена» соответствующим радиоактивным изотопом. Такой вирус необходимо сконцентрировать и очистить от примесей. Далее необходимо вырастить чувствительные клетки, которые будут заражены данным вирусом. Наконец, на отдельных этапах размножения вируса клетки придется разрушать, извлекать из них структуры, в которых осуществляется синтез вируса, фракционировать их и с помощью

счетчиков радиоактивности определять судьбу внесенной вместе с вирусом метки.

Все эти многосложные процедуры надо проделать неоднократно, чтобы полученный результат был статистически достоверен, а не случаен. Добытые в эксперименте данные тщательно анализируются и в конце концов становятся той новой крупицей знания, которая занимает свое место в общей системе представлений о мире и служит исходной точкой для последующих экспериментов.

Совершенствование оружия продолжается. Нерешенных вопросов, как вы увидите из дальнейшего рассказа, еще очень много. Вирусологам настоящего и будущего предстоит решить ряд теоретических и прикладных проблем, связанных прежде всего с защитой человека от болезнетворных вирусов. Уже сделанное в этой области служит основанием для оптимизма. А на очереди разгадка рака, создание новых эффективных лекарств против гриппа и гепатита, генная инженерия и множество других нерешенных или частично решенных проблем.

Экскурсия третья

ЧАСТНАЯ ЖИЗНЬ НЕВИДИМОК, ИЛИ КТО КОГО?

Изучение бактериального вируса представляет собой великолепную площадку для игр, на которой могут порезвиться серьезные дети, любящие задавать глубокомысленные вопросы.

Макс Дельбрюк

Мафия на клеточном уровне

Мы подошли вплотную к святая святых вирусов — к секретам их размножения. Разумнее всего начать наш рассказ с бактериофагов, тем более что это будет правильно и с исторической точки зрения. На первый взгляд задача не кажется сложной. В бактерию попадает частица вируса, через 20—30 минут бактерия растворяется, как кусочек сахара, а в растворе можно обнаружить сотни новых вирусных частиц. Один из основоположников современной молекулярной биологии Макс Дельбрюк говорил, что если такой эксперимент показать некоему молодому физику-теоретику, мало знающему о биологии вообще и о вирусах в частности, то он найдет задачу очень простой и возьмется разрешить ее в несколько месяцев. Лет через восемь вам, вероятно, захотелось бы повидать этого весьма несерьезного молодого человека и спросить его, найден ли ответ на эту загадку жизни. Он будет очень смущен, так как в работе, за которую он взялся, ему не удалось продвинуться ни на один шаг.

Итак, эта задача, кажущаяся на первый взгляд несложной, таит в себе много подводных камней. Сейчас она во многом решена, хотя до окончательного ответа еще далеко.

Оказалось, что формы взаимодействия вируса и клетки чрезвычайно сложны и многообразны. В одних случаях наблюдается прогрессивно развивающаяся болезнь клеток, которая закономерно заканчивается их гибелью: в других — вирус, проникший внутрь клетки, как бы исчезает и может длительное время не проявлять своего вредоносного действия.

В своем рассказе нам придется прибегать к ряду упрощений. Мы будем говорить о системе «вирус — клетка» в целом, не называя отдельных представителей многообразного царства вирусов и еще более многообразного

мира растительных, животных и бактериальных клеток. В связи с этим нам хотелось бы сразу же оговориться, что каждый вид вируса способен вызвать своеобразную болезнь клеток, отличающуюся по своим признакам. Может быть, в будущем исследователи смогут лишь по отдельным «симптомам» болезни клеток определять, каким вирусом клетки заражены,— примерно так, как врачи диагностируют заболевание человека.

Существует два основных типа взаимодействия вируса с клеткой. Первый называется острой, или явной, инфекцией; второй — латентной, или замаскированной, инфекцией. Названия эти означают: в первом случае заболевание клеток протекает бурно, быстро и приводит к гибели клеток; при втором мы имеем дело с длительным, если хотите, хроническим течением болезни; клетки при этом сохраняют внешне здоровый вид, и поэтому такое заболевание трудно распознать. Между двумя крайними видами вирусных заболеваний существует множество переходных.

При явной инфекции через некоторое время после контакта с вирусом начинается разрушение клеток: они сморщиваются, округляются и умирают. Постепенно не остается ни одной живой клетки, и на месте цветущей жизнеспособной культуры можно обнаружить лишь бесформенные останки погибших клеток. Этот процесс напоминает острую инфекционную болезнь со смертельным исходом. Его могут вызвать бактериофаги, вирусы оспы, полиомиелита, ящура и др. Эти вирусы не успокаиваются до тех пор, пока не уничтожат все живые клетки, которые попадаются на их пути. Естественно, что такие вирусы легче поймать с поличным — слишком явные следы преступления оставляют они после себя. Естественно также, что именно они послужили основным инструментом для изучения законов, по которым размножаются вирусы.

Сложные взаимоотношения вирусов с клетками в этих случаях напоминают драму, в которой зло (вирус) одерживает верх над добром (клеткой). Ее можно было бы назвать «Вирус-убийца», и разыгрывается она сразу, без репетиций. В ней пять актов:

встреча вируса с клеткой и прикрепление вирусных частиц к поверхности клетки (пролог);

проникновение вируса внутрь клетки;

внутриклеточное размножение вируса;

сборка новых вирусных частиц;

выход вновь образованного вируса во внешнюю среду и смерть клетки (драматический финал).

Следует напомнить, что между названными актами нет антрактов и что от момента встречи с вирусом до гибели клетки проходит иногда всего лишь несколько минут.

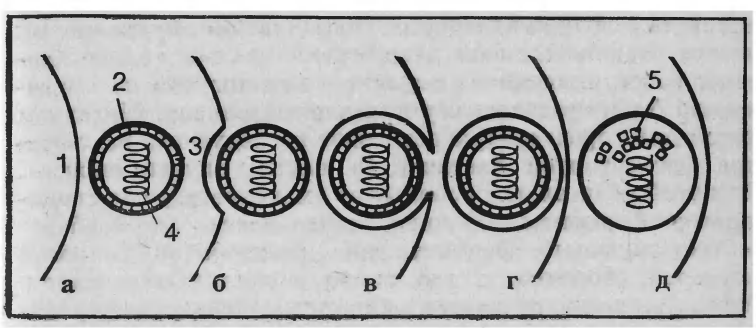
Совершим путешествие с воображаемым вирусом по территории клетки и посмотрим, как он делает свое черное дело.

Возьмем для начала фаги, у которых, как мы уже говорили, вся драма разыгрывается всего лишь несколько минут (невиданные в искусстве темпы!).

Атака на клетку начинается с прикрепления (адсорбции) вирусов к клеточной стенке. Нужно сказать, что адсорбция вируса отличается большой специфичностью: каждый вирус способен прикрепляться лишь к определенным клеткам (рис. 13).

На одной клетке могут адсорбироваться десятки, сотни и даже тысячи вирусных частиц. Адсорбция бактериофага под электронным микроскопом выглядит примерно так. На один из концов бактерии прикрепилось несколько десятков вирусных частиц. Обращает на себя внимание то, что все они садятся на клетку своими хвостами. Как мы увидим в дальнейшем, это не случайность, а закономерность.

Рис. 13. Схема начального этапа взаимодействия живой клетки *(1)* с вирионом *(2)*: *а* — клетка и вирион (*3* — оболочка вириона; *4* — вирусная нуклеиновая кислота); *б* — начальная стадия адсорбции вириона на клетке (видно небольшое впячивание на поверхности клетки); *в* — вдавленная внутрь клеточная оболочка окружает вирион; *г* — вокруг вириона образовалась замкнутая вакуоль; *д* — оболочка вириона разрушена (видны ее фрагменты — *5*), освободилась нуклеиновая кислота



После прикрепления к клеточной стенке начинается проникновение внутрь клетки нуклеиновой кислоты вируса. Вновь обратимся к бактериофагам. У них есть специальные приспособления для преодоления плотной бактериальной стенки. В концевой части хвоста содержится особый фермент, который может растворять бактериальную оболочку. Затем происходит сокращение микроскопических «мышц», заключенных в хвостовидном придатке вирусной частицы, и нуклеиновая кислота фага впрыскивается внутрь клетки. Этот процесс очень напоминает инъекцию с помощью шприца. В результате белковый чехол фаговой частицы остается на поверхности клетки и в дальнейшей инфекции роли не играет. А внутрь клетки попадает лишь часть фаговой частицы, а именно ее нуклеиновая кислота. Она-то и играет ведущую роль в воспроизведении потомства бактериофагов.

Так происходит оккупация бактерий фагами. Что же касается других вирусов, то наиболее просто устроенные из них не столь агрессивны. Их внедрение, как это ни странно, осуществляет сама клетка. Она как бы «заглатывает» прикрепленные к оболочке вирусные частицы. Здесь мы встречаемся с еще с одним парадоксом. Созданное многовековой эволюцией целесообразное приспособление приводит к совершенно нежелательным результатам. Посудите сами, активный захват клетками из окружающей среды различных частиц (фагоцитоз) или капелек воды (пиноцитоз) имеет большое значение для ее нормальной жизнедеятельности, а использование этих же механизмов для захвата вирусов скорее напоминает самоубийство. Более просто устроенные бактерии не способны сами захватывать частицы из окружающей среды. Этим, по-видимому, и можно объяснить наличие у поражающих их вирусов (бактериофагов) столь сложного и совершенного аппарата, осуществляющего впрыскивание нуклеиновых кислот. Однако если бы дело ограничивалось только простым «проглатыванием» вирусной частицы, это не приводило бы к трагическому для клетки финалу. Механизм фагоцитоза предусматривает также последующее растворение фагоцитарной частицы (в нашем случае вируса). Для этой цели клетка использует имеющиеся у нее специальные ферменты. Хорошо, если клетка не подберет соответствующего фермента для растворения белковой вирусной оболочки. Тогда война заканчивается миром. А если в арсенале у клетки окажутся подходящие фермен-

ты? Вы уже догадываетесь, что произойдет. Фермент разрушит вирусный чехол и освободит замурованную нуклеиновую кислоту, как капсулу с ядом. Ничего хорошего для клетки это не сулит.

Вирусная нуклеиновая кислота по клеточным каналам очень быстро проникает в ядро клетки или остается в цитоплазме. С этого момента начинается размножение вируса.

Теперь мы переходим к самому сложному этапу.

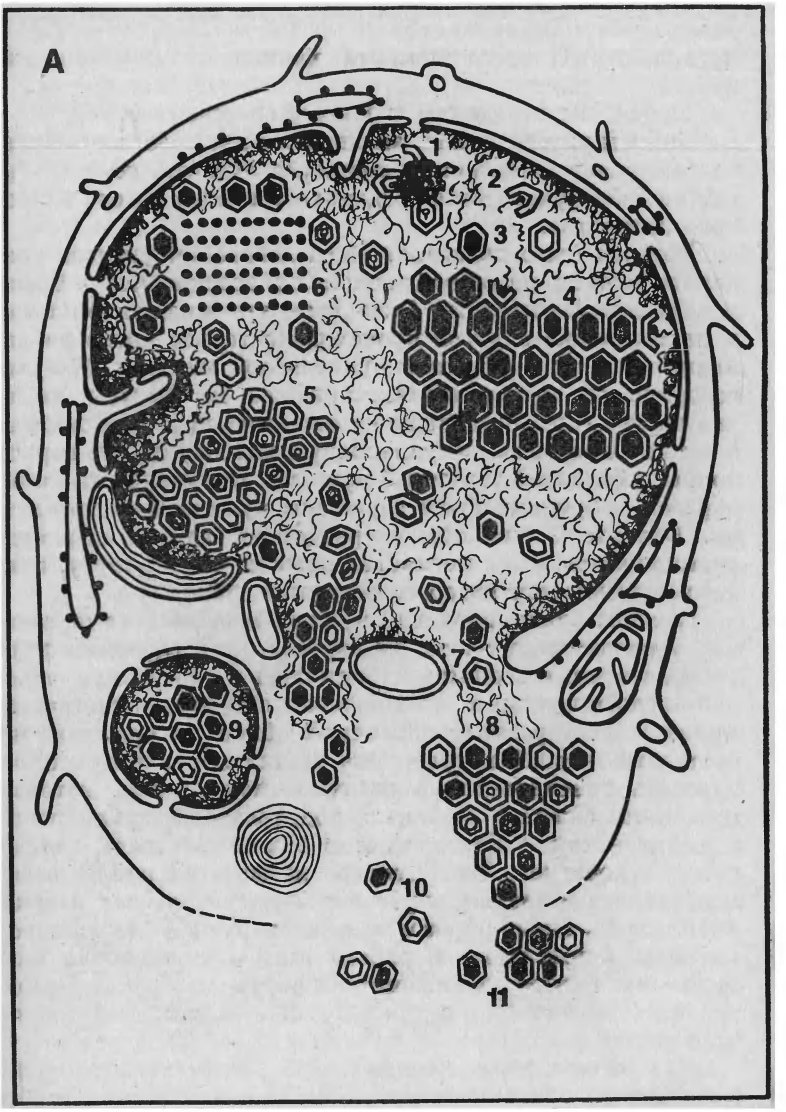
Как мы уже говорили, дальнейшее путешествие в клетке совершает вирусная нуклеиновая кислота, которая берет на себя руководство созданием в клетке нового вирусного потомства.

Как это было доказано? Исследователям удалось разделить вирусы на составляющие их компоненты — белки и нуклеиновые кислоты. Оказалось, что заражение клеток и размножение вирусов происходило только после добавления к клеткам вирусной нуклеиновой кислоты. Мы уже говорили об экспериментах, похожих на фокусы, когда два вируса были разделены на составляющие компоненты, а затем «переодеты» (нуклеиновую кислоту одного вируса покрыли белковой оболочкой другого). Полученными таким образом гибридами были заражены чувствительные клетки. Оказалось, что оба «переодетых» вируса способны размножаться, а их потомство подобно тому вирусу, нуклеиновую кислоту которого содержал гибрид.

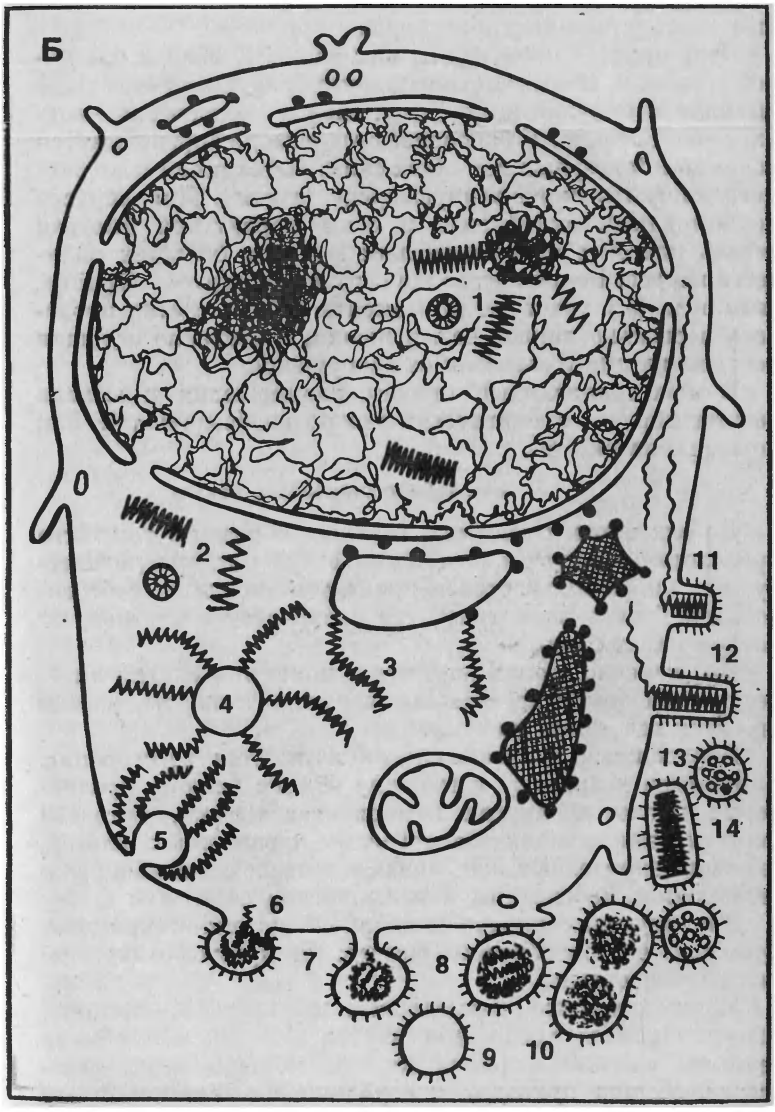
Следовательно, вирусная нуклеиновая кислота не только руководит размножением вирусов, но и определяет его наследственные свойства. Проникшая в клетку нуклеиновая кислота прежде всего подавляет продукцию клеточных молекул и направляет клеточный обмен на производство составных частей вируса. Она заставляет клетку синтезировать специальные ферменты — полимеразы, которые начинают снимать копии с родительской нуклеиновой кислоты,— так в фотографии с одного негатива делают сотни отпечатков. Этот процесс называется репликацией и протекает у разных вирусов в разных участках клетки. Затем часть вновь образовавшейся вирусной нуклеиновой кислоты направляется к рибосомам и с их помощью осуществляет синтез специфических вирусных белков, а другая часть используется для образования дочерних вирусных частиц.

Как видите, размножение вирусов происходит особым, ни с чем не сравнимым способом, напоминающим смерть

Рис. 14. А) схема размножения аденовирусов: *1, 2, 3.* — формирование новых дочерних вирионов; *4, 5, 6, 8, 9* — кристаллоподобное скопление вирионов внутри клетки; *7* — выделение вирионов из ядра в цитоплазму; *10, 11* — выделение вирионов из клетки (по А. Ф. Быковскому)



Б) схема размножения вируса гриппа: *1, 2* — скопление деталей вируса в ядре и цитоплазме; *3, 4* — формирование рибонуклеопротеидов; *5, 6, 7* — формирование овальных вирионов на поверхности клетки; *8—14* — различные виды внеклеточных вирионов



ради жизни. Сначала вирусная частица проникает внутрь клетки и разрушается там, а затем начинают заготавливаться детали будущих частиц.

Финальным этапом размножения вируса является сборка наработанных деталей, или, как иногда называют этот процесс, композиция вируса.

Этот процесс происходит, как правило, вблизи клеточной оболочки. Новые частицы вируса (вирусное потомство) выходят в окружающую среду, иногда захватывая часть клеточной стенки. У бактериофагов выход сопровождается разрывом бактериальной оболочки и вытеканием содержимого клетки в окружающую среду (лизис). Для вирусов полиомиелита, энцефалита и оспы характерна быстрая гибель клеток с одномоментным выходом больших количеств вируса. Большинство же остальных вирусов (гриппа, свинки и др.) успевают до момента гибели клетки проделать несколько циклов размножения, постепенно истощая ресурсы клетки и вызывая ее разрушение.

В целом описанный процесс размножения и выхода разных вирусов схематически можно изобразить так, как показано на рис. 14.

Как тайное становится явным

До сих пор мы говорили главным образом о том, что происходит с вирусом, попавшим в чувствительную клетку, как он размножается и производит полчища себе подобных. Теперь посмотрим, что происходит с клеткой, на которую напал вирус.

Вы, конечно, понимаете, что в принципе клетки интересуют биологов не меньше вирусов. Ведь из клеток строится все живое на земле.

Пораженные вирусом клетки изучаются всесторонне. Биохимики исследуют изменение обмена белков, нуклеиновых кислот и других компонентов клетки, цитологи смотрят, как изменяется строение зараженных клеток, генетики определяют, как меняются наследственные свойства клеток, перенесших заражение вирусами, и т. д.

Для изучения пораженных вирусом клеток применяются самые разнообразные методы: от простой микроскопии до киносъемки.

Можно сразу же предположить, что клетка не остается безразличной к внедрению вируса. Нарушение обмена веществ, вызванное размножением молекулярных гангстеров, обычно приводит к глубоким изменениям функ-

ций и структур клеток. Характер изменений зависит от типа вируса, вида и состояния клеток и условий окружающей среды. Как мы уже говорили, в одних случаях зараженные вирусом клетки теряют способность к размножению и росту, медленно гибнут; в других — вирусы перерождают нормальные клетки в раковые; в третьих — клетки сливаются в одно многоядерное образование, которое называют симпластом.

Разберем более детально случай острой инфекции. Посмотрите на две фотографии (рис. 15 на вкладке). На первой изображена культура клеток *HeLa* после двухсуточного роста при соблюдении оптимальных условий. Так выглядели клетки перед встречей с вирусом энцефалита. Отметим, что в этом опыте было добавлено приблизительно по одной вирусной частице на клетку. А рядом фотография тех же клеток через 20 часов после контакта с вирусом. Не правда ли, печальное зрелище! Вместо активно растущих жизнедеятельных клеток сморщенные, бесформенные останки. Теперь произведем несложный расчет. Известно, что каждая зараженная клетка производит на свет около 2000 новых частиц взятого в опыт вируса. Предположим, таких клеток 10, следовательно, эта небольшая группа и дает жизнь приблизительно 20 тысячам вирусных частиц, которые способны напасть соответственно на 20 тысяч здоровых клеток. Эти клетки произведут уже 40 миллионов новых вирусов. Громадное полчище невидимых убийц! Представьте себе еще один цикл размножения, и число вирусных частиц возрастает до 80 миллиардов, каждая из которых способна (вернемся к нашим впечатляющим фотографиям) превратить здоровую клетку в безжизненный труп.

Да, что и говорить, с вирусами надо обращаться осторожно!

А можно ли быстро узнать, что клетка больна? Существуют ли методы, позволяющие скоро и безошибочно отличить зараженную клетку от здоровой? Нет необходимости говорить о важности этой работы. Ведь чем раньше мы обнаружим вирус, тем быстрее можно принять меры для его уничтожения. Такие методы разработаны, и об одном из них мы сейчас расскажем. Он называется методом флуоресцирующих антител.

В ответ на попадание вируса в организме животного появляются противотела (антитела), которые способны специфически соединяться с данным вирусом. Например,

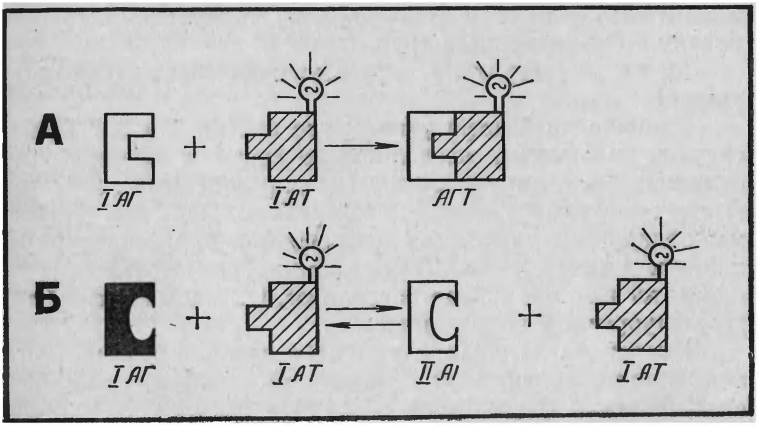
если сыворотку животного, имеющую антитела против вируса оспы, добавить к клеткам, содержащим этот вирус, то специфические антитела найдут его, свяжутся с ним и нейтрализуют. Однако такое соединение нельзя увидеть. Чтобы сделать это, надо сначала привязать к противовирусным антителам светящуюся краску (флуорохром). Получится великолепный индикатор, четко определяющий количество и местонахождение вирусов в клетке (рис. 16 и рис. 17 на вкладке).

Метод флуоресцирующих антител применяется сейчас во многих исследованиях. Он позволяет определять наличие вируса в клетках, которые внешне выглядят незараженными.

Вы уже знаете, что присутствие многих вирусов нарушает нормальные процессы жизнедеятельности клеток, в результате чего клетки в конечном итоге гибнут. Вспомним, что разрушение клеток лежит в основе широко распространенного метода учета скорости и характера размножения вирусов. Разрушение может быть полным или частичным, когда клетка сохраняет свои очертания и основную структуру.

Очень часто в клетках, зараженных вирусами бешенства, оспы, ящура и др., можно обнаружить необычайные образования, которые получили название телец включения.

Рис. 16. Схема, объясняющая метод флуоресцирующих антител: *А* — образование светящегося комплекса (АГТ) при соответствии антигена (АГ) антителу (АТ); *Б* — отсутствие подобного эффекта при несоответствии антитела антигену



Природа их долгое время оставалась неясной, хотя обнаружение включений уже давно используется для диагностики таких вирусных инфекций, как оспа и бешенство.

Пропавшие вирусы

Мы разобрали течение явной инфекции, когда вирус ведет войну против клетки в открытую, не пряча своих агрессивных намерений. Но вирусная инфекция может протекать скрыто, без видимых проявлений. Вирус проникает в клетку обычным путем и может оставаться в ней неопределенно долгое время, не оказывая характерного губительного действия. Больше того, вирус может передаваться потомству клетки и переходить из поколения в поколение. Может показаться, что такой вирус не представляет опасности для клетки. Но это не так. Как только организм ослабевает, вирус «готов к бою», он начинает быстро размножаться и убивает клетку.

До сих пор основной интерес исследователей вызывал процесс острой схватки клетки и вируса, схватки, после которой клетка, как правило, гибла, выбрасывая новое множество готовых к нападению вирусных частиц. Теперь ученых все больше привлекают во многом загадочные, скрытые, или хронические, вирусные инфекции.

Живой, но не живущий вне живого, великий регулятор и преобразователь клеточных функций — вирус лишь 20% своей генетической информации расходует на воспроизведение составляющих его компонентов, своего потомства. Остальные 80% содержат сведения, необходимые для преобразования «руководства» клеткой. Один из возможных исходов — хроническая вирусная инфекция.

Латентные, или бессимптомные, вирусные инфекции встречаются в природе чаще остальных. По-видимому, они — скорее правило, чем исключение. У человека и животных латентные инфекции наблюдаются при герпесе, полиомиелите, энцефаломиелите, гриппе, инфекционной анемии лошадей и т. д. Вирусы, вызывающие эти заболевания, могут очень долго, иногда всю жизнь, оставаться в организме, не обнаруживая своего присутствия. Но при попадании организма в неблагоприятные условия (охлаждение, длительное освещение солнцем, рентгеновские лучи, эмоциональные потрясения, другие заболевания, действие канцерогенных веществ) вирусы могут активизироваться и проявить свое болезнетворное действие. Таким

образом, неблагоприятные условия являются тем самым провоцирующим фактором, который переводит скрытую бессимптомную вирусную инфекцию в явное заболевание.

Ученые не могут пока дать удовлетворительного объяснения механизмов ее развития во всех случаях. Предполагается, что по крайней мере иногда равновесие, возникающее между клетками и присутствующими в них вирусами, достигается за счет некоторых противовирусных веществ (антител, интерферона), которые клетка образует в ответ на воздействие вируса.

В эксперименте латентная вирусная инфекция может быть вызвана различными способами. Например, возможен такой механизм латентной инфекции. Под действием вредоносных факторов белковая оболочка вируса изменяется, и вирусная нуклеиновая кислота как бы «замуровывается» внутри частицы и неспособна выйти наружу. Такой вирус может проникнуть в клетку и длительное время находиться в ней, оставаясь неактивным. В дальнейшем ферменты клетки могут разрушить оболочку, и это приводит к выходу нуклеиновой кислоты.

Итак, при латентных инфекциях вирус после проникновения внутрь клетки как бы исчезает. Клетки, содержащие такой замаскированный вирус, по виду ничем не отличаются от нормальных, они активно делятся и могут длительно культивироваться в лабораторных условиях. Вирус не производит своего патогенного действия, он мóжет включаться в ядерный аппарат клетки и при каждом делении передаваться ее потомству.

В соответствии с одной из наиболее интересных гипотез генетический материал вируса подключается к совокупности генетического материала (геному) клетки. В этом случае клетка в полном соответствии со своим регулирующим наследственным аппаратом вновь и вновь воспроизводит и вирус. Так, по мнению многих исследователей, возникает хроническая инфекция. Соединившись с генетическим веществом клетки, вирус как бы исчезает. Становится невозможным выделить его из клетки, обнаружить его присутствие, и все же он существует в ней, размножается и даже изменяет свои признаки. Другой механизм развития хронических вирусных инфекций связан с образованием дефектных вирионов, которые начинают преобладать в вирусной популяции. Эти вирионы имеют неполный набор генов и поэтому не способны размножаться. Более того, они мешают размножению полноценных вирионов и

поэтому получили название дефектных интерферирующих (интерферировать — в данном случае мешать размножению) частиц. Казалось бы, вирус мешает вирусу... На самом деле это не совсем так. Конкурируя с полноценным вирусом, дефектные вирионы ослабляют цитопатогенное (убивающее клетку) действие вируса и, спасая от гибели клетку, спасают вирус, так как «с точки зрения вируса» убить клетку — часто означает навлечь гибель и на себя, а при развитии хронической инфекции вирус сохраняется длительное время, до нового, счастливого шанса — заразить другой организм.

Особое удивление вызывают факты, когда обнаруживается, что вирусы, которые ранее считали типичными возбудителями острых инфекций (например, возбудители гриппа), способны вызывать длительные инфекции.

При попытке воспроизвести хроническую вирусную инфекцию в лабораторных условиях ученые заразили искусственно культивируемые живые человеческие клетки наиболее широко распространенным вирусом гриппа типа А. Через несколько поколений в клетках постепенно уменьшились, а затем полностью исчезли признаки воздействия на них вируса. В дальнейшем было уже невозможно всеми известными на сегодняшний день способами выделить вирус из зараженных клеток. Вирус «пропал» и не обнаруживал своего присутствия в течение многих месяцев.

Первой реакцией на возврат «исчезнувшего» вируса гриппа была бурная гибель содержащих его клеток. Вирус изменился, стал более агрессивным. Он приобрел новые свойства, опасные для клеток, столь долго и слепо поддерживавших существование притаившегося врага, приобрел признаки, говорившие о существенном усилении его агрессивности.

Необратимо изменились и сами клетки. Длительный контакт с генетическим материалом вируса не мог пройти бесследно, преобразовал их наследственные свойства. Клетки утратили свою первоначальную природу, трансформировались. У них появились признаки злокачественности, выразившиеся прежде всего в способности к безудержному, неограниченному росту.

Драматическая история хронической инфекции человеческих клеток вирусом гриппа поставила перед учеными многочисленные вопросы. В действительности ли происходит соединение (интеграция) генетического материала гриппозного вируса и генома клетки? Почему вирус вновь

активизируется и выходит из «маскированного» состояния? Какие механизмы ведут к превращению нормальных клеток, хронически зараженных вирусом, в злокачественные и насколько можно результаты, полученные на искусственно культивируемых клетках, переносить на цельный организм?

Эти вопросы, которые сейчас ставит перед собой так называемая интегративная вирусология, более подробно рассмотрены в следующей экскурсии.

Молекулярные химеры

Своеобразные данные о возможном механизме хронических инфекций были получены в результате изучения молекулярно-биологических процессов при размножении в клетках одного из представителей арбовирусов — вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей.

Ученые задались вопросом: обязательна ли для производства вируса вся клетка целиком? Проведены исследования, которые показали, что, собрав в пробирке необходимый строительный материал, энергетические ресурсы, ферменты и генетическую руководящую систему, можно получить бесклеточное производство биологических макромолекул, в частности составных частей вирусов.

Из зараженных вирусом клеток через некоторое время после инфицирования можно выделить субклеточные структуры, способные продуцировать инфекционный материал. Субклеточные структуры оказались той мельчайшей частью живой плазмы, которая включает в себя все необходимые для производства вирусных компонентов системы: энергетические станции — митохондрии; заводы по производству белков — рибосомы; рабочие ферменты и биологическое сырье. Роль главного регулятора в этой системе играет вирусная нуклеиновая кислота — в данном случае РНК.

Следующий этап исследований должен был внести ясность в вопрос о том, что же, собственно, за инфекционный материал, что за продукт образуется на этих самых выделенных из клеток структурах?

Нормальный вирус (на этом подробно мы останавливались ранее), говоря грубо, состоит из трех частей. Он содержит генетический материал, которым для арбовирусов служит рибонуклеиновая кислота. Нуклеиновую кислоту прикрывают оболочки: внутренняя, состоящая из белков,

и внешняя, белково-липидная. Внутреннюю образуют специфические вирусные белки, а в образовании наружной активно участвует клеточная стенка, большей частью при выходе вируса из клетки.

Субклеточные структуры, естественно, не имеют оболочки. Фактически это обломки зараженных клеток, но строго отобранные, именно те обломки, в которых есть все необходимое для продукции инфекционного материала и в которых эта продукция идет.

А так как обломки не имеют клеточной стенки, то и получаемый продукт (вот почему мы не называем его вирусом) не будет иметь внешней оболочки. Назовем его полуодетым вирусом. Полуодетый вирус состоит не из трех, а из двух частей: вирусной РНК, носителя инфекционных свойств, и оболочки из специфических вирусных белков.

Таким образом, если говорить упрощенно, получается тот загадочный инфекционный РНП (рибонуклеопротеид — комплекс нуклеиновой кислоты и белка), который вирусологи столько лет безуспешно пытались выделить из арбовирусов. Запомним этот термин — РНП, поскольку в дальнейшем нам придется встречаться с ним.

Изучение свойств и структуры РНП, этого вирусного ядра, приведшее к доказательству его инфекционности, имеет первостепенное значение. По сути, это открытие обозначило новый этап в подходе к решению фундаментальных проблем вирусологии.

Едва приступив к изучению свойств полученного материала, ученые натолкнулись на удивительный феномен. При разделении на ультрацентрифуге вместо ожидаемого одного инфекционного РНП, который по всем своим свойствам соответствовал предположительно определенным характеристикам вирусного РНП, они обнаружили еще три образования, также инфекционных и тоже рибонуклеопротеидной природы.

Все четыре РНП при введении в клетки вызывали процесс образования нормальных, полноценных вирусных частиц. Это и понятно, ведь каждый из них имел внутри вирусную РНК, то есть полную, записанную генетическим кодом шифрограмму на производство вирионов.

В чем же дело?

Ранее полагали, что вирусная нуклеиновая кислота может быть одета только в «чехол» из вирусных же белков. Обратный процесс получили сравнительно давно, и многие исследователи в «чехол» из вирусных белков

«запихивали» самые разнообразные нуклеиновые кислоты других вирусов и вообще невирусной природы.

Полученные необычные результаты могли иметь только одно объяснение: вместе с чисто вирусным комплексом «РНК — вирусный белок» были получены гибридные образования, гибридные РНП, то есть молекулярные химеры, в которых на вирусную нуклеиновую кислоту наряду с вирусными белками «надето» какое-то количество клеточных белков.

Чтобы доказать это утверждение, ученые специальными методами выделили из нормальных вирусов их нуклеиновую кислоту, РНК, и добавили ее к белкам, полученным из обычных, не зараженных вирусом клеток. Молекулярные химеры образовывались и в этом случае и обладали сходными свойствами.

Открытие привело к нескольким важным выводам. На внедрение чужеродного белка (а белки вирусов сугубо «чужие» для нашего организма) человеческий организм реагирует выработкой своих защитных белков, способных находить вторгшийся чужеродный белок и нейтрализовать его. Их так и называют — нейтрализующие антитела. Взвесь вируса теряет инфекционность, если к ней добавить известное количество нейтрализующих антител, так как последние довольно быстро соединяются с вирусными белками.

А как поведут себя антитела при встрече с гибридными РНП? Ведь эти молекулярные химеры покрыты клеточным белком, который является «своим» для организма — на него антитела не реагируют.

Если бы антитела могли испытывать эмоции, то их эмоциональная реакция на гибридный РНП, этот псевдовирус, напоминала бы, по-видимому, часто описываемую в нынешних фантастических романах ситуацию. Представьте себе ощущения человека, обнаружившего, что некий знакомый предмет оказывается опаснейшим пришельцем.

Вирусные РНП полностью инактивировались нейтрализующими антителами, гибридные же в значительной мере приобрели устойчивость к их воздействию. Этот результат имеет важнейшее значение.

Может быть, такое свойство гибридных РНП позволяет объяснить тот загадочный факт, что в естественных условиях антитела никогда не могут полностью подавить инфекционность вирусов, что среди большого количества

инактивированных вирусов, как правило, оказывается мизерная доля, устойчивая к действию антител.

Не играет ли образование молекулярных химер определяющую роль при формировании некоторых хронических вирусных заболеваний? Защищенные от антител организма, они могут длительное время пусть вяло, едва заметно, но поддерживать существование инфекции.

Работы последних лет показали, что при ряде экспериментальных хронических инфекций обнаруживаются частицы, свойства которых идентичны свойствам описанных нами молекулярных химер.

Медицинская наука давно установила, что ряд заболеваний человека, например такое, как ревматизм, возникает в силу того, что организм начинает производить антитела против своих собственных тканей, против своих собственных белков, так называемые аутоантитела. При ревматизме аутоантитела приводят к серьезным разрушениям сердечных клапанов.

Но почему организм начинает производить эти крайне опасные образования? Может быть, среди других причин здесь играют роль и молекулярные химеры? В них вирусный белок может вступать в тесную связь с белком клеточным, а это, в свою очередь, может привести к такому положению, когда организм вырабатывает антитела не к вирусному белку, а к комплексу «белок вируса — белок клетки»,— антитела, которые могут в дальнейшем соединяться с белками нормальных тканей и разрушать их.

Образование гибридных РНП между вирусными нуклеиновыми кислотами и клеточными белками дает возможность объяснить и еще одно странное обстоятельство.

У носителя генетической информации вируса, нуклеиновой кислоты, есть беспощадный враг — ферменты нуклеазы. Эти ферменты при встрече с нуклеиновыми кислотами разрушают, расщепляют их в течение короткого времени. Но в целом вирусе покрытая белковой оболочкой нуклеиновая кислота не подвергается губительному действию нуклеаз.

Внутри клетки обнаружено большое количество клеточных нуклеаз, установлено, что их активность при заражении клеток вирусом значительно повышается. Ряд исследователей полагают, что нуклеазы входят в состав защитных систем организма (подробно мы расскажем об этом в экскурсии пятой), что внутри клетки может суще-

ствовать или образовываться в ответ на вирусную инфекцию настоящий оборонительный «вал» нуклеаз.

Это утверждение приобретает особый смысл, если учесть, что при заражении клеток вирус обязательно «раздевается», его нуклеиновая кислота освобождается от белкового покрытия и может подвергнуться воздействию нуклеаз.

Но если клетки «набиты» нуклеазой, то как тогда вообще возможна вирусная инфекция? По всей вероятности, эту возможность обеспечивает способность вирусной нуклеиновой кислоты формировать в клетке гибридные комплексы с клеточными белками, которые и защищают ее от нападения нуклеаз.

Итак, мы в самых общих чертах познакомились со «святая святых» вирусов — механизмами их размножения. А ведь сравнительно недавно все превращения вирусов в клетках казались загадочными. Время от момента проникновения вирионов внутрь клеток до выхода нового вирусного потомства долго назывался учеными эклипс-фазой, или, по-русски, темной фазой, темным периодом.

Экскурсия четвертая

САМЫЕ ЗАГАДОЧНЫЕ И КОВАРНЫЕ

Проблема природы раковой болезни — проблема четырехтысячелетней давности, одна из самых сложных проблем современной биологии и медицины — находится на пути к разрешению.

Л. А. Зильбер

Вирусы и рак

Идея о том, что вирусы вызывают опухоли, не нова. Она была высказана в начале нашего века вскоре вслед за открытием вирусов.

В 1906 году датчане Эллерман и Банг обнаружили, что лейкоз (рак крови) у кур вызывают вирусы. Была использована система доказательств, предложенная первооткрывателем вирусов Д. И. Ивановским, то есть фильтрование материала и перевивка его чувствительным животным, повторенная многократно. Пять лет спустя американский ученый Пейтон Раус установил вирусную природу куриных сарком. Четверть века потребовалась для открытия очередного опухолевого вируса. На сей раз был «пойман с поличным» вирус, вызывающий рак молочных желез у мышей. А потом вирусы, вызывающие у животных лейкозы, раки и саркому, выделяли все чаще и чаще. Сильным доказательством в пользу вирусной природы опухолей было открытие опухолеродных вирусов у холоднокровных (лягушек), птиц и млекопитающих. К настоящему времени обнаружено уже более 40 онкогенных вирусов животных. Причем ни у кого нет сомнений, что эти вирусы являются истинными возбудителями неопластических процессов у птиц, мышей и других животных: заражение ими вызывало развитие лейкоза, саркомы или рака с высокой степенью воспроизводимости в разных странах, в разных лабораториях, у разных исследователей.

Однако столь же воспроизводимыми являлись опыты, в которых рак вызывали без всяких вирусов, простым введением животным химических веществ — канцерогенов или под влиянием ионизирующего облучения, а иногда надо было просто набраться терпения и ожидать, пока у лабораторных животных высокораковых линий в старости опухоли разовьются сами собой. Сейчас известны уже сотни канцерогенов, изучена их химическая структура и опре-

делена судьба в организме. Среди них в первую очередь — циклические углеводороды, содержащиеся в продуктах перегонки нефти и каменного угля, бензпирен, никотин. Канцерогены можно обнаружить в выхлопных газах, табачном дыму, в производственных отходах и т. д.

Все эти противоречивые, казалось бы, взаимно исключающие факты нашли свое объяснение после 1946 года, когда советский вирусолог Л. А. Зильбер разработал вирусогенетическую теорию рака. Согласно этой теории неопластические процессы вызываются вирусами. Однако рак не инфекционная болезнь, а патологический процесс совершенно иного типа. При инфекционном процессе вирус размножается, реплицируется в клетке, или, как говорят, проделывает определенный цикл репликации.

А как вирусы вызывают опухоли? Как они превращают нормальную клетку в раковую или, выражаясь научно, трансформируют клетку?

Теория Зильбера открывает путь к поиску ответов на эти центральные вопросы онковирусологии. При онкогенезе геном вируса, его нуклеиновая кислота, внедряется (интегрируется) как фрагмент в геном клетки, становится как бы его составной частью и эта интеграция образует начальное звено цепи процессов, в результате которых нормальная клетка превращается в раковую. Клетка приобретает ряд новых свойств, одно из которых — способность к ускоренному размножению. Так возникает очаг молодых быстроделящихся клеток, склонных к безудержному росту.

Опухолеродные вирусы в большинстве случаев не способны разрушить клетку, но могут вызвать в ней наследственные изменения, причем с этого момента опухолевые клетки больше не нуждаются в вирусе. Действительно, в уже возникших опухолях вирус часто не обнаруживается. Это позволило сделать вывод о том, что вирусы в появлении опухолей играют как бы роль спички, с помощью которой можно вызвать пожар. Имеются также данные о том, что измененные клетки не чувствительны к повторному заражению вирусом.

«Каким бы путем опухолеродный вирус ни проник в организм человека,— писал Зильбер,— долгое время он ничем не проявляет своего присутствия. В этом нет ничего удивительного. Он мало болезнетворен. Ему нужны особые условия, чтобы проявить болезнетворность, и пока этих условий нет, вирус вполне безобиден».

Следовательно, в цепи процессов, приводящих к развитию рака, действие физических и химических канцерогенов и старение организма могут иметь важнейшее значение. Таким образом, вирусогенетическая теория объясняет кажущиеся противоречивыми факты, отводя вирусам этиологическую (причинную), а канцерогенам — патогенетическую (причастную к механизму) роль в развитии рака и других неопластических процессов.

Как это ни странно, но первые доказательства возможности интеграции вирусных геномов клеточными были получены не в онкологии, а в, казалось бы, не имеющей ничего общего с онкологией области — при изучении так называемых умеренных фагов. Установлено, что заражение бактериальных клеток фагами, то есть вирусами бактерий, может вызывать один из двух альтернативных процессов: либо острую инфекцию, сопровождающуюся разрушением, лизисом бактериальной клетки и выходом многочисленного потомства вирионов — фаговых частиц, либо интеграцию фагового генома геномом бактериальной клетки. Об этом мы уже говорили в разделе об эволюции.

Вскоре, в середине 50-х годов, при изучении онкогенного вируса полиомы американским исследователем Ренато Далбекко было показано, что и здесь существует подобная альтернатива: вирус либо размножается обычным путем и вызывает острую инфекцию клеток, либо его геном встраивается в геном клетки и последняя претерпевает злокачественную трансформацию, становясь раковой клеткой.

Дальнейший прогресс в интегративной вирусологии — вирусологии, исследующей процессы внедрения вирусного генетического материала в геном клеток, зависел от понимания механизма интеграции, присущего вирусам с различными типами генетического материала.

Опухолеродные вирусы, как и все вирусы вообще, делятся прежде всего на две принципиально различные группы: ДНК-содержащие и РНК-содержащие, последние часто именуют онковирусами, или онкорнавирусами.

Среди ДНК-содержащих онкогенных вирусов имеются вирусы, относящиеся к группе оспы (возбудитель фибромы кролика и, вероятно, вирус Яба, поражающий обезьян), вирусы группы герпеса, аденовирусы, вирусы группы папова, наконец, парвовирусы (мельчайшие вирусы грызунов с однонитчатой ДНК). Среди РНК-содержащих вирусов обширная группа уже упомянутых онковирусов,

которую по морфологии вирионов подразделяют на вирусы типа С (возбудители лейкозов и сарком) и вирусы типа В (вирус рака молочных желез мышей). Недавно предложено выделить еще две группы онковирусов — вирусы типа А, изученные пока недостаточно, и вирусы типа D, группа которых состоит из вируса, выделенного при раке молочных желез обезьян резус, и вируса, выделенного из перевиваемых клеток человека.

Здесь уместно отвлечься и напомнить о трех кардинальных различиях, которые существуют между онкогенными ДНК-содержащими (например, вирусами герпеса) и РНК-содержащими вирусами — онковирусами.

При заражении клеток ДНК-содержащим онкогенным вирусом существуют два возможных альтернативных исхода: либо репликация, либо интеграция. Поэтому, например, вирус полиомы может вызвать либо инфекцию, либо трансформацию. У онковирусов этой альтернативы нет: успешное заражение клеток всегда сопровождается интеграцией. Онковирусы не способны вызвать инфекционный процесс и могут вызвать только трансформацию. Наконец, различны механизмы «вырезывания» (реализации генетической информации) у этих вирусов. Чтобы снова начать самостоятельное существование, геном вируса полиомы, интегрированный в геноме клетки, должен физически «вырезаться», а клетка должна его потерять. У онковирусов «вырезывание» заменяет простая транскрипция (списывание), так как РНК-транскрипт с интегрированного в ДНК клетки генетического материала вируса и представляет собой вирионную РНК. Следовательно, клетка, принявшая гены онковируса, их уже не теряет.

Несмотря на все указанные отличия, опухолеродные вирусы остаются вирусами. Действующее начало в них — нуклеиновая кислота. Это было доказано в опытах с заражением изолированной ДНК, полученной из вируса полиомы, клеток культуры тканей. Нормальные клетки под влиянием вирусной ДНК превращались в опухолевые и после введения в организм мышей вызывали появление опухолей.

Теория Зильбера, о которой мы говорили выше, объяснила внедрение вирусного генома в геном клетки для онкогенных вирусов, содержащих ДНК. ДНК вируса встраивается в хромосомы клетки и как бы становится одним из клеточных генов. Но есть еще большая группа онкогенных

вирусов, содержащих РНК. Оставалось неясным, как они могут встраиваться в ДНК хромосом.

В 1965 году американский ученый Говард Темин предложил парадоксальную для того времени гипотезу о синтезе ДНК на матрице РНК. Это было смелое предложение, так как оно как будто бы опровергало «центральную догму» молекулярной биологии об одностороннем переносе информации с ДНК на РНК.

Потребовалось еще пять лет, чтобы обнаружить специальный фермент, осуществляющий перенос информации с РНК на ДНК, названный обратной транскриптазой. Он осуществляет эту работу, строя ДНК на РНК. Доказать дальнейшее было уже гораздо проще. ДНК-копии встраиваются в ДНК клеток и передаются их потомству. Эти так называемые провирусы можно обнаружить в составе ДНК клеток различных животных, зараженных опухолеродными вирусами. Они есть, по-видимому, и в организме человека.

В начале 70-х годов вирусология вплотную подошла к открытию вирусов рака и других злокачественных новообразований человека. Сложность работы с этими вирусами сводилась к тому, что рак и другие опухоли человека — это чисто человеческие заболевания, а экспериментировать на людях нельзя.

Обычными инфекционными вирусами можно заразить живые экспериментальные модели различных видов, например лабораторных животных или куриные эмбрионы: скажем, вирус гриппа человека заразен для мышей, морских свинок, вирус оспы или бешенства — для многих видов животных. Опухолеродные вирусы более «узкие специалисты». Как правило, они поражают животных лишь определенного вида.

Но из этого правила есть исключение. Так, видовые барьеры удалось преодолеть на модели вируса куриной саркомы — им можно заразить крыс, кроликов, хомяков, обезьян, ящериц и даже змей. Еще одно исключение, правда не столь определенное: замечено, что лейкозы чаще встречаются у людей, ухаживающих за крупным рогатым скотом, для которого это заболевание признано видовым, то есть присущим только ему.

Среди большой группы перечисленных выше онкогенных вирусов искать наиболее вероятных возбудителей опухолей человека следовало прежде всего в двух группах вирусов: герпеса и онковирусов. И действительно, с

каждым годом исследователи получают все новые и новые доказательства в пользу этиологической роли вирусов герпеса при некоторых формах опухолей у человека.

У человека известны четыре вируса этой группы: вирусы герпеса первого и второго типа, вирус цитомегалии и вирус Эпштейна — Барра. Последний выделен при сравнительно редких формах злокачественной лимфомы тропических стран (лимфома Баркитта), а инфекционные свойства этот же вирус проявляет, вызывая синдром инфекционного мононуклеоза. С вирусом герпеса второго типа связывают рак шейки матки, а в последнее время виновником онкологических процессов начинают признавать вирус герпеса первого типа и цитомегаловирус. Нам не хотелось бы, чтобы у читателей создавалось впечатление, будто вопрос об этиологической роли герпес-вирусов в возникновении некоторых видов опухолей у человека уже решен. Он решается, но не так быстро, как нам того хочется. Нужны доказательства, а их могут дать все новые и новые исследования.

Не так давно коллектив сотрудников Института экспериментальной патологии и медицины Академии медицинских наук СССР под руководством академика АМН Б. А. Лапина выделил вирус лейкоза у обезьян. Таким образом, была создана очень важная экспериментальная модель лейкоза. Появилась реальная возможность изучить все детали болезнетворного процесса, начиная с самых первых его этапов, когда организм еще кажется вполне здоровым. В перспективе модель позволит, может быть, разработать способы ранней диагностики и лечения этого страшного заболевания.

Большое значение для успешного развития онковирусологии имело применение молекулярно-биологических методов исследования. Именно благодаря им удалось открыть большую группу онковирусов, поражающих почти всех позвоночных — от змей до приматов, и показать, что животные и культуры их клеток часто содержат в своих геномах ДНК-транскрипты онкогенных вирусов, выявляемые в опытах молекулярной гибридизации. Изучение биологических и биохимических свойств этих вирусов привело к результатам, которые позволяют предсказывать, иначе говоря, вычислять свойства еще не открытых онкогенных вирусов человека.

Вирусологи мира, работая много лет с культурами клеток, получаемых из раковых опухолей человека, на-

пример с клетками *HeLa* или *HEp*-2, не пытались даже искать в них раковые вирусы, хотя подобные поиски напрашивались, кажется, сами собой. Наконец такая работа была проделана сотрудниками Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР и Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи. Первыми забили тревогу электронные микроскописты. В сверхтонких клеточных срезах они обнаружили вирусные частицы, очень похожие на те, что вызывают рак у животных. Затем вирусологам удалось выделить эти частицы, очистить их и изучить основные свойства.

В начале 50-х годов в одной из клиник США умерла женщина по имени Генриета Лак. Из оперированной у нее злокачественной опухоли матки ученые вывели линию клеток, известную ныне каждому цитологу. Эти клетки есть теперь во всех вирусологических лабораториях мира. Вот уже много лет клетки *HeLa* служат своеобразным эталоном в многочисленных исследованиях. Потребность в клетках *HeLa* постоянно возрастает. Одна английская лаборатория, занимающаяся коммерческим производством живых клеток, предполагает довести выработку клеток *HeLa* до десятков килограммов в неделю. Это значит получить в течение месяца такое количество клеток, которое будет равно массе взрослого человека.

Практически любая ткань живого организма, в том числе и организма человека, может быть превращена в перевиваемую линию клеток. В оптимальных условиях, при регулярных перевивках в стерильной среде, гарантирующей клетки от случайного заражения, можно неопределенно долго поддерживать жизнеспособность культуры. Существует великое множество и других линий клеток человека и животных, часть из них перевивается в лабораторных условиях уже десятки лет.

Было доказано, что культура клеток *HEp*-2 регулярно выделяет в жидкую фазу структуру с плотностью 1,16 г/см ^{3}. Электронно-микроскопическое исследование показало, что эти структуры являются вирионами, сходными (но не тождественными) с известными онковирусами животных. Эти вирионы имеют наибольшее сходство с онковирусами типа В, и в них была обнаружена неоднородная РНК, состоящая из некоторых компонентов. Один из них — это высокомолекулярная РНК с молекулярной массой около 3 миллионов, другим оказалась низкомоле-

кулярная РНК, также характерная для данной группы вирусов.

В составе вирионов была обнаружена также обратная транскриптаза — фермент, катализирующий синтез ДНК на матрице РНК.

Синтез протекает в два этапа: сначала на матрице РНК синтезируется комплементарная ей нить ДНК, а затем уже на этой нити достраивается вторая нить ДНК и одновременно происходит разрушение, деградация нити РНК.

Получив вирус из клеток *HEp*-2, ученые стали исследовать другие культуры перевиваемых клеток. Оказалось, что клетки *HeLa, RH,* Детройт 6, ДАПТ, АО также вырабатывают онковирус, сходный с названными только что вирионами. Клеточные культуры *HeLa, RH,* Детройт 6, ДАПТ и АО выведены из раковых или из нормальных, но претерпевших трансформацию клеток человека. Позже выяснилось, что не все перевиваемые культуры, с которыми работали в различных лабораториях мира, были «чистыми», некоторые из них оказались «зараженными» другими клетками, чаще всего клетками *HeLa*, и потому-то содержат один и тот же вирус (его впервые выделили советские ученые из клеток *HEp*-2).

Некоторые клоны культур не вырабатывали онковирус спонтанно, то есть самопроизвольно, в таких случаях прибегали обычно к блокированию ядерных синтезов бромили йоддезоксиуридином. Такой прием часто применяется для усиления процесса производства онковирусов культурой клеток.

Наконец, многие из исследованных культур вообще не содержали онковирусов.

Систематическое изучение перевиваемых культур (своего рода молекулярно-биологический скрининг — см. стр. 166) позволило сделать много других интересных находок. Так, например, в клетках линии J96, происходящих из лейкемических клеток человека, был обнаружен онковирус типа С.

Итак, выделен онковирус. Что же дальше? Второй этап работы — идентификация этого вируса, то есть установление его «личности» путем сравнения с другими, уже известными онковирусами. Делается это с помощью иммунологических тест-систем, выявляющих антигены исследуемых вирусов. Так вот, идентификация показала, что человеческий онковирус, во-первых, иммунологически

отличается от онковирусов, выделенных от птиц, мышей и других животных, включая приматов; во-вторых, он иммунологически родствен лишь одному из ранее открытых вирусов — вирусу Мезона—Пфайзера, найденному в раковых клетках молочной железы обезьян резус; в-третьих, вирусы разных культур тканей человека иммунологически неотличимы.

Естественным продолжением начатых работ стал третий этап исследований: надо было установить природу новоявленного онковируса. Вопрос формулировался так: каково его происхождение — эндогенное или экзогенное? По гипотезе Хьюбнера — Тодаро у позвоночных должны существовать эндогенные онковирусы, то есть онковирусы, генетическая информация которых содержится во всех клетках и передается, естественно, от родителей потомству. Это предположение как будто бы подтвердилось при изучении вирусов лейкоза — сарком птиц и мышей. Оказалось, что даже у так называемых безлейкозных линий этих животных обнаруживаются в ДНК последовательности, подобные последовательностям в нуклеиновых кислотах онковирусов типа С, а в эмбриогенезе можно проследить экспрессию (так называют в молекулярной биологии биохимический процесс реализации генетической информации) этих генов в виде синтеза группово-специфических антигенов.

Однако для других животных, в частности приматов, гипотеза Хьюбнера — Тодаро подтверждения не получила. Поэтому были поставлены опыты по молекулярной гибридизации РНК- или ДНК-транскрипта (ДНК-копий) изучаемого вируса с ДНК, выделенной из тканей человеческого эмбриона. Результаты были отрицательные: ни в одном из 10 исследованных образцов ДНК нормальных тканей человека не было обнаружено последовательностей, присущих нуклеиновым кислотам изучаемого вируса. Американские исследователи, работавшие с вирусом рака молочных желез обезьян (вирус Мезона—Пфайзера), получили такие же результаты. Следовательно, вирус, выделенный из человеческих клеток, не является для них эндогенным (равным образом вирус Мезона — Пфайзера не эндогенен для тканей обезьян).

Поэтому дальнейшая работа была направлена на поиски соответствующих изучаемому вирусу последовательностей в ДНК или РНК, выделенных из раковых тканей. Уже первые опыты показали, что во многих образцах

раковых тканей биохимическими методами можно обнаружить экспрессию генома какого-то онковируса.

Так были отобраны образцы опухолей, в которых подозревалось наличие онковируса, чтобы затем методами молекулярной гибридизации выявить генетическое родство этого вируса с ранее выделенным. Для этого был применен наиболее точный метод молекулярной гибридизации, который ученые называют «изучением кинетики реассоциации». Такой метод позволяет давать не только качественную, но и количественную оценку слияния геномов искомого вируса с геномами клеток.

Вначале были изучены клеточные культуры, производящие вирус. Выяснилось, что в геномах их клеток содержатся многие десятки копий геном-эквивалентов вируса, а в цитоплазме — многие сотни и тысячи вирусных геномов.

Затем было исследовано несколько десятков раковых тканей. Ни в лейкозных клетках, ни в тканях лимфом (точнее, в ДНК или РНК этих клеток) не были обнаружены последовательности, которые присущи нуклеиновым кислотам (РНК- или ДНК-транскрипту) вируса типа D. Не было их обнаружено и в большинстве образцов раковых тканей — рака желудка, рака кожи и других форм рака. Положительные результаты дала примерно половина случаев в опытах по молекулярной гибридизации вирусной ДНК-транскрипта с ДНК или РНК из тканей гормонассоциированных форм рака женщин — рака грудной железы и рака яичника.

Как это всегда бывает в науке, решение одного вопроса сразу же рождает ряд новых. Есть ли в организме больных раком антитела против новых вирусов? Будут ли специально приготовленные иммунные сыворотки реагировать с антигенами в раковых клетках человека? Могут ли новые вирусы вызывать злокачественное перерождение нормальных клеток? И так далее.

Это закономерно, ибо, как писал С. И. Вавилов, «когда наука достигает какой-либо вершины, с нее открывается обширная перспектива дальнейшего пути к новым вершинам, открываются новые дороги, по которым наука пойдет дальше». Надо сказать, что проведенные исследования потребовали не только объединенного труда ученых различных специальностей — вирусологов, морфологов, иммунологов, биохимиков и др., но и соответственно использования обширного арсенала тонких и трудоемких

современных методов анализа. В истории науки есть масса примеров, доказывающих, что решение наиболее сложных вопросов возможно лишь при синтетическом, комплексном подходе. Обсуждаемая здесь проблема — хороший пример, иллюстрирующий это положение.

Изучая онковирусы животных, исследователи установили, что наряду с истинно онкогенным вирусом в злокачественно перерожденных клетках обычно присутствуют и вирусы-спутники и вирусы-помощники, которые, будучи истинными онковирусами, тем не менее не обладают способностью вызывать злокачественную трансформацию поражаемых ими клеток.

Ранее было известно, что лимфомы каким-то образом связаны с вирусами группы герпеса. Поэтому были поставлены опыты молекулярной гибридизации ДНК цитомегаловируса — одного из представителей вирусов группы герпеса — с ДНК, выделенной из селезенки больных лимфоматозом. В этих опытах было показано, что ДНК лимфоматозных тканей содержит последовательности, гомологичные ДНК цитомегаловируса. Таким образом, в лимфоматозных тканях было установлено наличие геномов двух онкогенных вирусов, или, точнее, двух вирусов, обладающих онкогенными потенциями — неидентифицированного онковируса (напомним, что молекулярная гибридизация не выявила в лимфоматозных тканях последовательности, присущие онковирусу типа D) и цитомегаловируса.

Любопытно сопоставить эти данные с исследованиями Спигелмана и его сотрудников сходной болезни кур — лимфоматоза Марека. До сих пор признается, что возбудителем болезни Марека является птичий герпес-вирус, однако в опытах упомянутых авторов болезнь развивалась при заражении цыплят двумя вирусами — герпесвирусом и вирусом птичьего миелобластоза, в то время как заражение только одним из этих двух вирусов не вызывало болезни. Вполне возможно, что и у человека некоторые формы неоплазм — результат своеобразной «кооперации» двух вирусов с онкогенными потенциями, как и вполне возможно, что злокачественный лимфоматоз — это тоже пример такой «кооперации».

Изучая молекулярные механизмы хронических вирусных инфекций, исследователи обнаружили «кооперацию» онкогенных и инфекционных вирусов. Наиболее полно это явление было исследовано при изучении хронической

инфекции культуры клеток *HEp*-2 РНК-содержащим вирусом клещевого энцефалита. В течение десятка лет культура перевивалась много сот раз, и в ней постоянно присутствовал вирус клещевого энцефалита, что, однако, не приводило к разрушению клеток. Удалось показать, во-первых, что эта культура продолжает производить онковирус типа D, во-вторых, что инфекционное начало вируса клещевого энцефалита продуцируется в виде инфекционных рибонуклеопротеидов, а не полноценных вирионов.

Описанная модель представляет большой теоретический интерес, так как устанавливает возможность взаимодействия онковируса с инфекционным вирусом. Можно заключить, что совместное существование в клетках двух вирусов сопровождалось неоднократной транскрипцией генома вируса клещевого энцефалита в ДНК с помощью обратной транскриптазы онковируса и последующей интеграцией ДНК-транскрипта в клеточную ДНК. В результате ДНК-транскрипт арбовируса стал частью клеточного генома. Однако описанная модель носит искусственный характер, и поэтому представляло интерес найти сходные механизмы при естественных патологических процессах.

Ученые обратили внимание на системную красную волчанку — иммунологическую болезнь, для которой ранее установили три следующие закономерности: во-первых, больные имеют необычно высокие титры антител к вирусу кори, которые соотносятся со степенью тяжести патологического процесса; во-вторых, в лейкоцитах больных методом иммунофлуоресценции обнаруживается коревой антиген; в-третьих, в клетках, пораженных патологическим процессом, при электронно-микроскопическом исследовании обнаруживаются трубчатые образования, весьма сходные с некоторыми структурами парамиксовирусов, к которым относится вирус кори.

Необходимо ответить на два вопроса: можно ли обнаружить в ДНК ядер пораженных волчанкой клеток последовательности, комплементарные РНК вируса кори, и можно ли выявить в этих клетках экспрессию генома онковирусов? Для ответа на первый вопрос были поставлены опыты молекулярной гибридизации РНК вируса кори с ДНК пораженных волчанкой тканей. В опытах было показано, что ДНК, выделенная из почек, селезенки, костного мозга, лимфатических узлов и лейкоцитов от больных системной красной волчанкой, содержит после-

довательности, комплементарные РНК вируса кори, причем в некоторых образцах до 10 геном-эквивалентов на клетку.

Было показано также, что в этих клетках обнаруживается обратная транскриптазная активность на матрице высокомолекулярной РНК, иными словами, была обнаружена экспрессия онковируса. Этот вирус не является онковирусом типа D, так как молекулярная гибридизация не выявляет гомологичных ему последовательностей.

Основываясь на полученных данных, можно следующим образом представить начальные этапы развития системной красной волчанки. По-видимому, в редких случаях коревой инфекции происходит взаимодействие коревого вируса с латентным онковирусом; в результате такого взаимодействия обратная транскриптаза онковируса переписывает (транскрибирует — на языке вирусологов) коревую РНК в ДНК, которая встраивается затем в клеточный наследственный аппарат и таким образом становится группой клеточных генов. Экспрессия этих генов выражается в синтезе вирусспецифических белков, которые частично встраиваются в клеточные мембраны и изменяют их антигенные свойства. Такие клетки становятся чужеродными для организма и объектом атаки для его иммунных клеток.

Так начинается развитие аутоиммунной болезни.

Мы хотели обратить внимание еще на один патологический процесс, в котором участвуют онковирусы. Речь идет о проблеме совместимости и несовместимости тканей, о реакции пересаживаемой ткани, или так называемого трансплантата. Известно, что если скрестить две чистые линии мышей, то потомство становится нечувствительным к пересадке ткани любого из родителей. Приживаются все виды ткани, в том числе и лимфоидная, содержащая иммунноактивные клетки. Если же перед пересадкой лимфоидной ткани у реципиента (получателя ткани) подавить иммунную систему, то возникает своеобразная реакция: пересаженные лимфоидные клетки атакуют подавленную систему хозяина, которая для трансплантата наполовину своя (сходного, гомологичного родителя), наполовину чужая (от другого родителя). Так возникает болезнь, получившая название «трансплантат против хозяина». Изучение животных, пораженных этой болезнью, показало, что в тканях резко выражена экспрессия, жизнедеятельность онковируса, а в поздних

стадиях болезни, принимающей хроническое течение, у животных часто развиваются злокачественные лимфомы.

Таким образом, онкогенные вирусы, а точнее, онковирусы — участники не только неопластических процессов (как сами по себе, так и в ассоциации с ДНК-содержащими онкогенными вирусами), но и, взаимодействуя с инфекционными вирусами, могут стать причиной развития аутоиммунных процессов. Более того, они играют определенную роль в течении реакций, наблюдаемых при трансплантации органов и тканей.

Если сопоставить все эти факты, то напрашивается мысль: не являются ли онковирусы нормальными компонентами организма, участвующими в процессах клеточного цикла — дифференциации и полиферации? Мысль о том, что онкогенные вирусы могут приносить пользу, кажется противоестественной, но если отрешиться от антропоцентризма, то можно показать, что в животном мире они вряд ли приносят вред популяции.

Действительно, рак развивается при радиационных воздействиях, при действии канцерогенов и в старости. Первые два фактора ненатуральны, нехарактерны для естественной среды обитания, а поражение особей, вышедших из продуктивного периода, не отражается на судьбе популяции. С другой стороны, латентный онковирус со слабыми онкогенными потенциями, уже встроенный в геном клетки, может защитить ее от родственного высокоонкогенного вируса подобно тому, как умеренный фаг защищает клетку от высоковирулентного родственного фага.

Все это пока только догадка, сугубо теоретическое построение, высказанное лишь затем, чтобы подчеркнуть необходимость поиска новых подходов к пониманию сложной проблемы канцерогенеза.

Один из таких подходов — гипотеза, согласно которой «раковые» гены, то есть гены, участвующие в канцерогенезе, имеют клеточное, а не вирусное происхождение. Быть может, следует более подробно изложить эту гипотезу и посылки, лежащие в ее основе.

Первая посылка — это признание того, что рак в принципе может развиваться и без участия онкогенных вирусов, хотя на самом деле он всегда или почти всегда развивается при участии вирусов. Мысль эта станет более понятной несколько позже.

Для понимания дальнейшего следует сказать, что ге-

ном клеток животных состоит из двух групп генов. Около трети генома занято уникальными генами, регуляция работы которых имеет строгий иерархический характер. Около двух третей генома занято повторными последовательностями, например многими тысячами рибосомальных генов. Регуляция их деятельности более проста, и большинство их находится чаще всего в функционально активном состоянии.

Далее мы исходим из следующих положений, которые можно считать доказанными. Большинство известных онковирусов, в том числе эндогенных, обладает слабой онкогенной активностью или вовсе не онкогенны. Встраивание их в геномы клеток может быть повторным, и поэтому у разных линий экспериментальных животных и их тканей в ядерной ДНК обнаруживается разное число геном-эквивалентов онковирусов. Обычным местом включения ДНК-транскриптов онковирусов служат области хромосом, содержащие повторяющиеся гены. Наконец, при транскрипции вирусспецифических участков клеточной ДНК может быть захвачен участок, содержащий нормальные клеточные гены. Эти четыре положения — результат изучения процессов интеграции и экспрессии модельных вирусов, поражающих грызунов и птиц. Как видно из изложенного, описанные процессы интеграции и экспрессии не сопровождаются развитием злокачественной трансформации клеток.

К основному постулату предлагаемой гипотезы относится предположение, что иногда интеграция ДНК-транскрипта онковируса происходит «по ошибке» в уникальную часть генома, в частности в ту его область, которая регулирует клеточное деление. При работе этой части генома считывается вирусспецифический участок и одновременно могут быть захвачены клеточные гены, ведающие определенными фазами клеточного деления,— в этом суть второй посылки гипотезы. Третья посылка формулируется так: захватив клеточные гены, вирусная РНК может вновь транскрибироваться в ДНК и занять свое обычное место — область генома, содержащую повторные гены.

Поскольку в этой части генома нет иерархической регуляции и гены почти всегда функционально активны, то такую же активность приобретают и перенесенные сюда уникальные гены, вследствие чего нарушается нормальный клеточный цикл. Так начинается цепь процес-

сов, приводящих к перерождению нормальной клетки в злокачественную, а вирус, захвативший соответствующие клеточные гены, становится онкогенным.

Естественно, эта гипотеза, как и всякая другая, нуждается в проверке, в доказательствах.

Некоторые экспериментальные результаты последних лет свидетельствуют, кажется, в пользу гипотезы. В частности, доказано уже, что онкогенный вирус саркомы Рауса (так называемый саркоматозный ген) имеет клеточное происхождение и обнаруживается методом молекулярной гибридизации в нормальных тканях кур. Сходный ген обнаружен и у других птиц, причем различия между ним и саркоматозным геном выражены тем более, чем дальше друг от друга птицы находятся на эволюционной лестнице.

До сих пор мы рассматривали онкогенные вирусы и вызываемые ими процессы с позиций патологии, хотя и подчеркивали оценку некоторых их свойств с более общих биологических позиций. С этой точки зрения нельзя не видеть сходство между столь разлиными, казалось бы, явлениями, как лизогения, то есть включение ДНК фагов в ДНК бактерий, и канцерогенез у животных, вызываемый онкогенными вирусами. В обоих случаях происходит перерождение клеток, наблюдается перенос клеточных генов, а вирусы (точнее, их геномы) могут превращаться в составные части геномов клеток или снова (в случае ДНК-содержащих вирусов) становиться автономными саморепродуцирующимися системами. Общим для этих процессов является обмен генетическим материалом, вирусы выступают в роли посредников генетического обмена, а основным механизмом его является интеграция.

Если учесть, что вирусы поражают все существующие на земле биологические виды, от бактерий до высших растений, от простейших до высших животных и человека, если учесть, что многие вирусы чередуют свое пребывание в растении и насекомом, в теплокровном животном и в клеще или поражают многие биологические виды, если учесть, наконец, что многие из них длительно пребывают в организме хозяина, то все более становится очевидной роль вирусов не только как возбудителей, но и как переносчиков генетической информации, посредников генетического обмена в биосфере, как факторов, наконец, ускоряющих эволюцию органического мира.

Рассмотренный выше общебиологический аспект приходится учитывать и при изучении процессов вирусного канцерогенеза. Исследования природы рака еще далеки от завершения, однако кое-что уже сделано для понимания, а затем и решения этой сложнейшей проблемы.

Есть все основания надеяться, что в обозримом будущем медицина получит новое действенное оружие для борьбы с грозными злокачественными заболеваниями. Учитывая известные в настоящее время факты и быстрый прогресс в изучении опухолей, нельзя не согласиться с прогнозом, полученным на основании массового опроса специалистов в этой области.

Специалисты утверждают, что достижения в диагностике и лечении рака уменьшат вдвое смертность от этого заболевания уже в 1988 году. А появление в ближайшем будущем новых сильнодействующих противоопухолевых препаратов будет способствовать почти полному избавлению человечества от рака к 1997 году.

Будем надеяться, что прогнозы оправдаются.

К настоящему времени в специальной литературе уже описано около 100 случаев обнадеживающего применения интерферона при запущенных формах рака. Статистика такая: у половины больных наблюдалось четкое улучшение, выражавшееся в уменьшении размера опухолей и подавлении метастазирования.

Шведский ученый Странджер использовал интерферон при лечении 40 детей, страдавших так называемыми остеогенными саркомами, дающими даже после ампутации пораженных конечностей до 80 процентов метастазов. Интенсивная и длительная интерферонотерапия привела к тому, что более половины больных жили свыше 5 лет (срок наблюдения), в то время как в контрольной группе выживших было менее 25 процентов.

Интерферон оказался эффективным и при других злокачественных заболеваниях (лейкемии, аденокарциноме, раке шейки матки и др.), где его применение показано по крайней мере для предупреждения вторичных вирусных осложнений, часто наблюдающихся в результате использования цитостатиков (веществ, останавливающих деление клеток) и иммунодепрессантов (веществ, подавляющих иммунные реакции организма).

Убедительные результаты были получены при лечении ювенильного папилломатоза гортани — заболевания голосовых связок, выражающегося в том, что на них наблюдается

рост бородавок. Хирургическое удаление бородавок практически малоэффективно — они быстро вырастают вновь. Так, один ребенок перенес 400 (!) подобных операций. Интерферонотерапия применялась в семи случаях: у трех больных установлено полное излечение, у остальных наблюдалось быстрое уменьшение роста бородавок, правда лишь до тех пор, пока вводился (путем инъекций) препарат.

Все известные на сегодня клинические испытания интерферона показали его малую токсичность. Даже при длительном и интенсивном лечении, когда миллионы единиц препарата вводили 2—3 раза в неделю в течение от полутора до двух с половиной лет, лишь в редких случаях были отмечены непродолжительное повышение температуры, незначительные местные боли, аллергические реакции и кратковременные тромбоцито- и гранулоцитонемии. Эти побочные реакции исчезали либо сами по себе, то есть без отмены инъекций, либо после их отмены.

Все эти данные позволяют остро ставить вопрос о производстве необходимых для медицинской практики количеств интерферона и снижении его стоимости. Ныне этот препарат получают из лейкоцитов крови доноров, то есть из очень дорогого сырья, причем с крайне мизерным выходом. Судите сами: основным поставщиком высокоактивных препаратов интерферона для стран Запада была и остается Финляндия; в 1979 году группа К. Кантелла изготовила 0,4 грамма очищенного человеческого интерферона, израсходовав на это 45 тысяч литров донорской крови! Это значит, что для получения одного грамма интерферона необходимо обработать более 100 тысяч литров крови от приблизительно 200 тысяч доноров. Стоимость одного грамма таким способом полученного препарата составляет, по расчетам американских специалистов, около 50 миллионов долларов. Во что же обходится тогда лечение? Разовая доза интерферона — один миллион единиц, в денежном выражении это 150 долларов за одну инъекцию, а полный курс лечения — 30 тысяч долларов и более.

Но широкое применение интерферона сдерживается не только и, пожалуй, не столько его дороговизной, сколько недостатком исходного сырья — донорской крови. Так, того интерферона, который был получен в 1979 году, хватило бы всего на две тысячи больных, это приблизительно десятая часть процента больных раком только в США.

Иными словами, потребность в интерфероне в десятки и

сотни тысяч раз больше, чем его производится в настоящее время.

Целесообразно его производить или нет — не этот вопрос волнует ныне ученых. Волнует другое: как добиться увеличения производства препарата и снизить его стоимость?

Идут поиски более дешевых и менее дефицитных видов сырья. Вероятнее всего, что этим сырьем окажутся различные клетки человека — ведь их ученые уже научились размножать в особых условиях, причем практически в неограниченных количествах. И уже, кстати говоря, разрабатываются системы крупномасштабного культивирования клеток.

А в последнее время выявлены два новых подхода к решению «сырьевой проблемы». Первый подсказан генной инженерией, второй — биохимией.

Попытки вывести бактериальный штамм с активно функционирующим геном человеческого интерферона предпринимались на протяжении ряда лет, но только в 1980 году удалось получить штамм кишечной палочки, производящей человеческий интерферон. Работа эта была, прямо сказать, каторжная: было изучено 5 тысяч клонов (следующих друг за другом поколений наследственно однородных бактериальных «потомков») бактерий, в которые вводились плазмиды, содержащие интерфероновый ген.

Поиск высокопродуктивных бактериальных клонов продолжается. Первая удача на этом пути вселяет надежду, что задача будет решена в недалеком будущем.

Возможность химического синтеза интерферона стала казаться реальностью, когда удалось раскрыть его аминокислотный состав. Оказалось, что этот белок состоит из 165 аминокислот. Уже выявлена и их последовательность в молекуле интерферона, что делает его синтез вполне решаемой задачей.

В следующей экскурсии мы вновь вернемся к интерферону и расскажем об истории его открытия и свойствах этого замечательного белка.

Экскурсия пятая

УЯЗВИМЫ ЛИ НЕВИДИМКИ, ИЛИ НАПАДЕНИЕ — ЛУЧШАЯ ФОРМА ЗАЩИТЫ

Нет худа без добра.
Клин клином вышибают.

Народные поговорки

Лекарства против вирусов

Нужно ли доказывать, что одна из основных задач вирусологии — это выработка эффективных способов предупреждения и лечения вирусных инфекций. Перед учеными стоит длинный ряд мишеней, на которых написаны названия вирусов. В зависимости от важности инфекции, которую вызывают вирусы, мишени отличаются по размерам. И их надо поразить во что бы то ни стало. Оружие ученых — знание, помноженное на опыт, и фантазия. Да, да, именно фантазия!

Когда вы познакомитесь с тем, как ученые ставят заслон вирусам, вы поймете, что без фантазии эта работа была бы обречена на провал.

Из всего, о чем вы узнали раньше, следует простой вывод — с вирусами бороться не так-то просто. Являясь абсолютными паразитами, они размножаются внутри живых клеток, которые, как правило, гораздо чувствительнее к различным воздействиям, чем вирусы. Следовательно, воздействуя на вирусы, уже проникшие в клетки и спрятавшиеся там, как в надежной крепости, можно нанести большой вред клеткам. Получается, что сама клетка надежно защищает их от заслуженной кары.

Издавна ученых, занимающихся поисками противовирусных препаратов, мучила задача разделения неделимого.

Клетка, которую не так давно представляли простым, элементарным кирпичиком в огромном и бесконечно сложном цельном организме и которая в настоящее время разрослась по степени сложности до размеров молекулярной галактики, является тем местом, где производит свою разрушительную работу великолепно приспособленный для этой функции вирус.

Успешно бороться с вирусами мы сможем только тогда, когда и для них, как в свое время для бактерий, найдем «магическую пулю», способную поражать врага внутри

занятой им клетки, не повреждая, не убивая, не отравляя при этом саму клетку.

Эта проблема — как пройти по лезвию ножа, отделяющему синтетические процессы нормальной клетки от вирусспецифических, характерных для вирусной инфекции процессов, как отделить в сложнейшей путанице молекулярных превращений «своих» от «чужих» — составляет насущную и первейшую задачу ученых, занятых молекулярной биологией вирусов.

Взглянув с молекулярной точки зрения на систему «вирус — клетка», мы обнаруживаем, что современная наука пока только в общих чертах и очень приблизительно описывает основные этапы схватки, пока лишь примерно определяет характер процессов, приводящих это сражение к тому или иному исходу.

Задача заключается в том, чтобы на молекулярном уровне подавить специфические процессы биологического синтеза вирусных частиц в зараженных клетках, не затронув по возможности или хотя бы затронув только в допустимых пределах жизнедеятельность нормальных клеток.

Шквал открытий, пронесшийся в прошлом десятилетии по вирусологическим лабораториям мира, укрепил мнение исследователей, что достижения молекулярной биологии могут указать новые перспективы в борьбе с вирусами, в лечении вирусных заболеваний.

Старое, но грозное оружие

А если поставить перед вирусом заслон и не дать ему пробраться внутрь клетки?

Эта идея далеко не новая. Как это ни парадоксально, она возникла и была с успехом проверена задолго до открытия вирусов. Если вы любите точность, то эта работа была выполнена на 98 лет раньше! Суть способа сводится к простой формуле: бей врага его же оружием. Вирус здесь выступает против вируса.

Как вы помните, сельский врач Эдвард Дженнер попробовал прививать оспу коров (вакцину) здоровым людям, и после этой процедуры они не заболевали настоящей оспой. Второй противовирусной вакциной (так стали называть препараты, защищающие организм от вирусных и бактериальных инфекций), созданной также еще до открытия вирусов, стала вакцина Луи Пастера против

бешенства. А в XX веке вакцины появляются уже одна за другой. Сейчас каждому школьнику известно, что вакцина — это препараты из убитых или ослабленных микробов и вирусов, после введения которых люди становятся невосприимчивыми к тяжелым инфекционным заболеваниям. Попадая в организм, такой вирус не вызывает заболевания, но он, как опытный тренер, учит организм приемам защиты. Иммунитет создается без болезни.

Все то, что мы рассказали о вакцинах и вакцинации, называется иммунопрофилактикой. Так создается невосприимчивость организма к определенному вирусу. Но ко всем остальным заразным вирусам, а их, как мы уже говорили, более 500, организм остается чувствительным. Понятно, что вакцинировать против всех или хотя бы большинства вирусов задача нереальная. Давайте подсчитаем: при трехкратной прививке потребуется более четырех лет ежедневных уколов! Плюс к этому известно явление интерференции вирусов, то есть эффект подавления действия второго вируса первым. Честно говоря, мы здесь пошли на некоторое преувеличение. Для каждого места существует свой определенный набор вирусов. Не все они смертельно опасны. Некоторые люди, естественно, невосприимчивы к отдельным вирусным инфекциям. Например, известно, что есть люди, никогда не болеющие гриппом. Далеко не каждое попадание вируса в организм вызывает заболевание. Прочитав это, вы можете сказать: «Не так страшен черт, как его малюют».

Так-то оно так, но все же вирусные инфекции держат первое место среди других заболеваний по ряду показателей. Они абсолютные чемпионы и рекордсмены мира по скорости распространения, массовости поражения и захваченным площадям. Корь, ветрянка, свинка, полиомиелит — это то, что подстерегает детей; грипп, аденовирусы, риновирусы, гепатит, арбовирусные инфекции — это ассортимент и для детей и для взрослых.

В настоящее время ученые договорились применять вакцины только против самых серьезных вирусных инфекций, таких, как оспа, полиомиелит, корь и некоторые другие. Против инфекций, имеющих локальное, очаговое распространение (клещевой энцефалит, желтая лихорадка), вакцины применяются тоже локально. Против редких или экзотических инфекций вакцины используются по показаниям. Типичный пример — бешенство. Это болезнь с таким длительным инкубационным периодом, что с вакцина-

цией можно успеть даже после того, как вирус попал в организм.

Не показалось ли вам, что вакцины есть против всех вирусов и ученые только размышляют, когда их стоит, а когда не стоит вводить? Это не так. Во-первых, не все вирусы еще открыты (вспомните вирусы рака, лейкоза или гепатита); во-вторых, среди известных вирусов попадаются также загадочные экземпляры, которые не так-то просто заставить делать доброе дело и работать не «против», а «на» здоровье людей. В качестве простейшего примера вспомним опять злополучный вирус гриппа.

Ну хорошо, скажете вы, а если все же вирус проник внутрь клетки, что тогда? Попробуем рассуждать исторически. Вирусы много старше человека, они были его постоянным спутником и всегда были (так уж они устроены) абсолютными паразитами.

Практически на протяжении всего своего существования, за исключением нашего XX века (а это для истории сравнительно небольшой отрезок времени), люди ничего не знали о вирусах и не могли бороться с вирусными инфекциями. И все же человечество выжило, несмотря на большие потери, которые лежат «на совести» вирусов. Значит, природа позаботилась о защите и организм не так уж беспомощен в единоборстве с вирусами.

Ученым предстояло разгадать тайны природы, а потом использовать полученные знания в борьбе с вирусами. Вначале удалось выяснить, что в процессе вирусного заболевания в крови появляются антитела. Они обладают способностью находить и обезвреживать вирусы, которые вызвали заболевание. После того как человек выздоровел, антитела еще долго (иногда всю жизнь) остаются в организме и защищают его от повторных заболеваний. Если искусственно вызвать образование антител, например вакцинами, то заболевания вообще можно избежать. А можно попробовать другой способ. Взять антитела из организма переболевшего человека и ввести тому, кто может заболеть. Этот способ тоже используется в медицинской практике. Он относится к числу быстро, но, к сожалению, короткодействующих. Сыворотки, содержащие антитела (вернее, действующую фракцию таких сывороток — гаммаглобулин), вводят в тех случаях, когда произошел контакт с больным и заболевание вот-вот должно начаться. Принцип действия в этом случае тот же самый. Надо не допустить вирус внутрь клетки.

Но где взять достаточное количество антител, чтобы вводить их в инфицированный человеческий организм в каждом необходимом случае? Проблема сырья для получения иммуноглобулинов столь же остра, как и при производстве человеческого интерферона.

Сегодня тем не менее вскрыты пути для решения и этой задачи. Основанием для оптимизма служат результаты проведенных в конце 70-х годов блестящих научных работ, в ходе которых была разработана технология получения высокоспецифичных антител в препаративных масштабах. В отличие от генной инженерии эта новая технология позволяет на основе готовых хромосом конструировать гибридные клеточные системы (гибридомы), обладающие необходимыми свойствами.

Методом слияния добиваются гибридизации быстро растущих миеломных клеток с клетками, способными синтезировать специфические антитела. Образно говоря, в одно новое целое собирают две составные части, одна из которых может делать много, но не знает, что, вторая — знает, что, но малопродуктивна.

Из многообразия полученных вариантов гибридных клеток выбирают клоны, которые производят антитела только одного типа — моноклональные антитела.

Описанный здесь кратко метод дает возможность получить гибридомы, вырабатывающие неограниченное количество антител любой заданной специфичности. Уже сейчас приготовлены моноклональные антитела, способные нейтрализовать, например, вирус бешенства, разрушать раковые клетки, инактировать возбудителя малярии.

Техника получения гибридом рассматривается учеными как новое, революционное направление в иммунологии, непосредственно касающееся практически важных аспектов развития современной вирусологии.

Можно ли среди врагов найти друзей?

Обычные представления о вирусах связаны прежде всего с самыми различными болезнями. Вред, который приносят вирусы, так велик, что все пишущие об этих микроскопических существах прежде всего подчеркивают их отрицательные качества. Вы могли заметить, что и в этой книге вирусы были щедро наделены самыми нелестными эпитетами. Паразиты, невидимые убийцы, молекулярные гангстеры, преступники, враги человечества — та-

кие определения обычно сопровождают вирусы. И, согласитесь, здесь нет никаких преувеличений, все это заслуженно и справедливо.

Существуют ли «полезные» вирусы? Ученые, впервые задавшие этот вопрос, рассуждали примерно так: если есть вирусы, которые поражают вредных животных, насекомых, бактерий, значит, эти враги настоящих врагов могут стать союзниками человека. Сначала были выделены и испытаны вирусы — пожиратели бактерий (бактериофаги, или фаги). Быстро и безжалостно расправлялись они со своими ближайшими соседями по микромиру. Палочки чумы, брюшного тифа, дизентерии, вибрионы холеры буквально «таяли» на глазах после встречи с этими вирусами.

Фаги стали применять для предупреждения и лечения многих инфекционных заболеваний, но, к сожалению, за первыми успехами последовали неудачи. Это было связано с тем, что в организме человека фаги нападали на бактерии не так активно, как в пробирке. Кроме того, бактерии оказались «хитрее» своих врагов: они очень быстро приспосабливались к фагам и становились нечувствительными к их действию.

После открытия антибиотиков фаги как лекарство отступили на задний план. Но до сих пор их с успехом используют для распознавания бактерий. Дело в том, что фаги умеют очень точно находить «свои бактерии» и быстро растворять их. Подобные свойства фагов и легли в основу диагностики. Обычно это делается так: выделенные из организма больного бактерии выращивают на твердой питательной среде, после чего на полученный «газон» вносят различные фаги, например дизентерийные, брюшнотифозные, холерные и др. Через сутки чашки просматривают на свет и определяют, какой фаг вызвал растворение бактерий. Если такое действие оказал дизентерийный фаг, значит, из организма больного выделены бактерии дизентерии, если брюшнотифозный фаг — бактерии брюшного тифа. Этот очень точный метод позволяет определять не только вид бактерий, но и их тип.

Фаги стали первой группой вирусов, «прирученных» человеком.

Иногда на помощь человеку приходят вирусы, поражающие животных и насекомых. Несколько лет назад в Австралии остро встала проблема борьбы с дикими кроликами. Количество этих грызунов достигло угрожающих

размеров. Они быстрее саранчи уничтожали посевы сельскохозяйственных культур, стали национальным бедствием. Обычные методы борьбы с ними оказались малоэффективными. И тогда ученые выпустили на борьбу с кроликами специальный вирус, способный уничтожить практически всех зараженных животных. Но как распространить это заболевание среди пугливых и осторожных кроликов? Помогли комары. Они сыграли роль «летающих игл», разнося вирус от кролика к кролику. При этом комары оставались совершенно здоровыми.

Можно привести и другие примеры успешного использования вирусов для уничтожения вредителей. Все знают, какой ущерб наносят гусеницы и жуки-пилильщики. Одни поедают листья полезных растений, другие поражают деревья, угрожая порой садам и лесам. С ними сражаются так называемые вирусы полиэдроза и гранулоза. На небольших участках их распыляют пульверизаторами, а для обработки больших площадей используют самолеты. Так поступали в США (в Калифорнии) при борьбе с гусеницами, которые поражают поля люцерны, и в Канаде при уничтожении соснового пилильщика. Перспективно также применение вирусов для борьбы с гусеницами, поражающими капусту и свеклу, а также для уничтожения домашней моли.

Итак, фаги успешно воюют со своими ближайшими соседями по микромиру — бактериями, другие вирусы могут использоваться в борьбе против вредных насекомых и животных.

Как вы полагаете, что произойдет с клеткой, если заразить ее не одним, а двумя вирусами? Если вы решили, что болезнь клеток обострится и гибель ускорится, то ошиблись. Оказывается, присутствие в клетке одного вируса часто надежно защищает ее от проникновения другого. И осуществляется защита с помощью особого вещества, названного интерфероном — мы с ним уже встречались на страницах этой книги и встретимся еще раз для более близкого знакомства с ним.

Каких полезных дел можно ожидать в будущем от вирусов? Давайте перенесемся в область предположений.

Прежде всего стоит напомнить о генной инженерии. Вирусы могут оказать ученым неоценимую пользу, захватывая нужные гены в одних клетках и перенося их в другие. Наконец, существует еще одна возможность использования вирусов.

Недавно открыт вирус, который способен избирательно разрушать некоторые опухоли мышей. Получены также вирусы человека, способные разрушать опухолевые клетки. Если удастся лишить эти вирусы болезнетворных свойств и сохранить при этом их свойство избирательно разрушать злокачественные опухоли, то в будущем, возможно, будет получено мощное средство для борьбы с этими тяжелыми заболеваниями. Поиски таких вирусов ведутся, и сейчас эта работа уже не кажется фантастической и безнадежной. Все, о чем рассказано в этой главе, подтверждает старую народную мудрость: нет худа без добра.

Учась у природы

Вирусы неохотно уступают свои позиции. Каждый следующий рубеж приходится брать с боем; за каждым успехом стоят годы экспериментов. Мы уже говорили, что вакцины могут преградить вирусам доступ внутрь клеток. А теперь разберем более сложную ситуацию. Что делать, если вирус попал внутрь клетки и антитела, которые не могут проникнуть через клеточную оболочку, уже не действуют.

Как отличить «свое» и «чужое» на уровне молекул? Как подавить специфическую губительную работу генетического материала вируса, не повредив, не задев тончайших механизмов живой клетки?

Пока ученые не могут создать средств, способных справиться с этой задачей. А природа? Природа как-то решает и ее. Известно, что далеко не все клетки погибают после встречи с вирусами.

При бесконечном следовании причудливыми путями эволюции живой материи природе удалось создать интерферон — чудесный белок, способный защитить клетки от вирусов, способный различать клеточный и вирусный наследственный материал и специфически подавлять продукцию микроскопических гангстеров.

Три десятка лет назад вирусологи обнаружили странное явление, о котором мы обещали рассказать. Если животным последовательно вводить два разных вируса, то развитие второго подавляется и, следовательно, его вредоносное действие не проявляется. Скажем, если первый вирус был несмертельным, а второй вызывал смерть животного, то, будучи введен через некоторое время после первого, он уже не убивал экспериментальных животных, а

вызывал лишь легкое заболевание. Создавалось впечатление, что первый вирус не пускает на захваченную территорию клетки других претендентов, но вместе с тем оставалось неясным, как это происходит. Явление было названо интерференцией вирусов.

С течением времени число пар вирусов, взаимно несовместимых, росло. Но механизм такого эффекта по-прежнему оставался загадкой. Так было до 1957 года, до знаменитых опытов английских ученых Айзекса и Линденманна, которые обнаружили, что при вирусных инфекциях в клетках образуется особое вещество — интерферон. Он-то и защищает окружающие клетки от безнаказанного распространения вирусов.

За изучение интерферона взялись многие вирусологи мира. Вскоре было показано, что он образуется в организме самых различных животных после заражения практически любым вирусом. Интерферон обладает значительно большей активностью, чем известные всем антибиотики, например пенициллин, стрептомицин. Единица его активности ничтожно мала и составляет всего 0,004 микрограмма.

В чистом виде интерферон — сравнительно простой белок. Некоторые интерфероны необычайно устойчивы к высокой температуре. Они выдерживают длительное прогревание при 65° — температуре, достаточной для разрушения большинства известных белков. Являясь продуктом клеток организма, интерферон не ядовит. Это очень важное обстоятельство, если вспомнить, что тысячи противовирусных препаратов были забракованы из-за их токсичности.

Исследования последних лет показали, что производить интерферон способны клетки всех позвоночных, от рыб до человека. Программа его образования закодирована в клеточном ядре, но она начинает осуществляться обычно лишь после заражения клеток вирусом или обработки их специальными препаратами, названными индукторами.

Механизм действия интерферона изучен недостаточно. Как мы уже говорили, сложный процесс размножения вирусов состоит из нескольких следующих друг за другом этапов.

Нуклеиновая кислота заведует синтезом всех деталей будущего вирусного потомства. После образования этих деталей (белка и нуклеиновых кислот) происходит их

сборка и формирование новых вирусных частиц. Размножение вируса, как правило, приводит к гибели пораженных клеток. Однако если в организм ввести интерферон, то он очень быстро проникнет внутрь клеток и сделает их нечувствительными к вирусу. Причем это защитное вещество не обладает прямым действием на вирусные частицы, а подавляет один из этапов внутриклеточного размножения вирусов.

Интерферон приводит в клетках в состояние боевой готовности некий загадочный механизм, способный отличать вирусное от невирусного и вирусное избирательно подавлять, фактически не влияя на клеточные процессы, то есть отличает «свое» от «чужого».

Если бы противовирусным препаратам присуждали призовые места за широту спектра действия, то интерферон, несомнённо, был бы золотым медалистом. Действительно, наука почти не знает вирусов, которые были бы нечувствительны к интерферону.

Однако у этой медали, как у всякой другой, есть оборотная сторона. Выражаясь научно, интерферон типоспецифичен.

Это значит, что он действует только в тех тканях, на которых получен.

Чтобы иметь, следовательно, препарат, активный при вирусных заболеваниях человека, его следует производить на человеческих клетках.

Вот теперь мы знаем, что интерферон активно вырабатывается клетками организма после проникновения вируса. Известно, что он останавливает уже начавшийся процесс размножения большинства вирусов. Эти два факта позволяют говорить о важной роли интерферона в естественном выздоровлении человека и животных, страдающих от той или иной вирусной инфекции. Несомненно, многое определяется тем, как быстро образуется интерферон, успевает ли он защитить клетки до попадания вирусов в кровь и рассеивания их по организму. И здесь интересно сравнить его с антителами. Оба защитных фактора — ответ на инфекцию, оба обладают антивирусной активностью, но на этом их сходство кончается.

Антитела специфичны по отношению только к своим вирусам, интерферон же подавляет размножение большинства (если не всех) вирусов. Антитела образуются довольно поздно, обычно через несколько дней после внедрения вируса, интерферон — уже через несколько часов, то есть

задолго до образования антител. Наконец, антитела производятся лишь определенной группой кроветворных клеток, тогда как интерферон — клетками практически всех тканей.

Словом, интерферон — простейший и универсальный фактор защиты от губительного действия вирусов. Он работает по типу сигнала «стоп» и быстро обрывает начавшуюся инфекцию. А главное, интерферон борется с вирусами, уже проникшими внутрь клетки. В этом еще одно его отличие от антител, которые обезвреживают лишь вирусы, находящиеся вне клеток, и поэтому могут использоваться главным образом для предупреждения, профилактики инфекций, но не для их лечения.

Конечно, успех борьбы организма с вирусами обеспечивается совместным действием и антител, и интерферона: антитела действуют как бы «извне» и предотвращают распространение вирусов от клетки к клетке через окружающую среду, а интерферон защищает от гибели «изнутри». Ряд фактов показывает, что, если подавить образование интерферона, вирусные инфекции протекают значительно острее и тяжелее. Например, в эмбрионах и организмах новорожденных, наиболее чувствительных к вирусам, интерферон образуется плохо.

Интерферон играет важную роль в течении заболевания гриппом у человека. Человеческий организм обладает большими возможностями к образованию собственного интерферона.

При гриппозной инфекции уже вскоре после заражения в крови человека можно обнаружить заметные количества интерферона. Специальные исследования обнаружили, что тяжесть течения гриппа у человека очень зависит от способности его организма продуцировать интерферон.

Больше того, оказалось, что гриппом заболевают в основном те люди, у которых наряду с отсутствием иммунитета, снижением количества защитных антител в крови понижено и содержание интерферона.

Перефразируя известную поговорку, можно сказать, что в здоровом теле — активный интерферон. Способность образовывать интерферон значительно колеблется в зависимости от общего состояния организма человека.

Охлаждения, нервные потрясения, отсутствие витаминов в пище — эти и многие другие неблагоприятные влияния прямо приводят к утрате способности организма вырабатывать интерферон.

Но раз интерферон обладает такими замечательными способностями, нельзя ли его использовать для лечения вирусных инфекций? Несколько удачных попыток применения интерферона уже есть. Когда одной группе кроликов ввели интерферон, выделенный из почек других кроликов, эта группа стала невосприимчивой к вирусам герпеса. У кроликов контрольной группы, получавших другие препараты, вирус герпеса вызвал острый герпетический кератит.

Интерферон хорошо показал себя при лечении лейкемии (болезни крови) мышей. В этих опытах мыши, которым предварительно был введен интерферон, в течение трех месяцев оставались нечувствительными к заражению вирусом.

Несколько лет назад в нашей стране начались широкие исследования путей получения человеческого интерферона и возможности применения его для профилактики и лечения вирусных заболеваний человека.

В результате упорного труда многочисленного коллектива ученых и практических врачей, который возглавлял академик АМН СССР В. Д. Соловьев, были заложены реальные основы массового получения лейкоцитарного человеческого интерферона, пригодного для клинического применения.

Лейкоцитарным интерферон называют потому, что для его приготовления используют белые клетки донорской крови человека — лейкоциты.

Лейкоциты отделяют от основной массы клеточных элементов крови и обрабатывают вирусом, активно индуцирующим образование интерферона во взвеси лейкоцитов в питательной среде.

В дальнейшем вирус-индуктор разрушают, препарат дополнительно очищают, концентрируют и переводят в состояние, обеспечивающее длительную его сохранность.

К сожалению, эта крайне упрощенная схема ни в коей мере не может передать всего объема сложной исследовательской работы, изучения множества параметров с целью поиска тех оптимальных условий, той технологии, в результате которой появляется активно действующий новый лечебный препарат — интерферон.

Совершенно безвредный, он применяется сейчас для лечения и профилактики уже многих вирусных заболеваний — кожи, глаз и, что особенно обнадеживает, дыхательных путей.

Естественно, что один из первых вопросов, на который старались получить ответ врачи и ученые, заключался в том, в какой мере интерферон может облегчить борьбу с гриппом.

В самые последние годы получен огромный клинический материал, который определенно показывает: да, интерферон может облегчить течение заболевания гриппом у достаточно большого числа людей.

Например, по полученным на тысячах пациентов данным Центрального института эпидемиологии МЗ СССР, профилактический эффект применения интерферона во время одной из вспышек гонконгского гриппа выражался в снижении заболеваемости в 3—4 раза.

Препарат интерферон, полученный из лейкоцитов человека, оказался активным при введении добровольцам с различными вирусными заболеваниями, не поддавшимися лечению другими препаратами. Удачным было и лечение новорожденных, больных вирусной цитомегалией.

Среди «талантов» интерферона есть и еще один, который кажется нам весьма перспективным; он подавляет размножение вирусов, вызывающих развитие опухолей. Эта работа еще не вышла за рамки лабораторного эксперимента, но первые результаты позволяют надеяться на возможность применения интерферона для предупреждения и лечения рака.

Широкий спектр действия, отсутствие токсичности,— возможно, эти замечательные свойства помогут интерферону в будущем прийти на помощь вакцинам и сывороткам. Лейкоцитарный интерферон уже прочно вошел в нашу лечебную практику. Но наряду с развитием и усовершенствованием этого препарата ученые ведут поиск новых путей.

Удивительные спирали

Действительно, если интерферон так активен, если организм обладает большими резервами для продукции интерферона, а получение его в лабораториях наталкивается в настоящее время на определенные трудности и нехватку клеточного материала, то почему не попытаться заставить организм производить интерферон в нужных случаях?

Оказалось, что это принципиально возможно и уже найдено большое количество веществ, которые в лабора-

торных условиях вызывают образование активного интерферона при введении в организм экспериментальных животных. Эти вещества так и назвали — индукторы интерферонообразования, или интерфероногены.

Самыми активными из них оказались препараты, по своему строению близкие нуклеиновым кислотам, этим универсальным носителям информации в мире земной жизни. Естественные нуклеиновые кислоты представляют собой закодированную запись биологической информации, отраженную в той или иной последовательности нуклеотидов. Их синтетические аналоги никакой информации на себе не несут, здесь нет последовательности упорядоченно выстроенных нуклеотидов, да и нуклеотид повторяется в длиннющей цепочке обычно один и тот же.

Пара таких цепочек, перекрученных одна вокруг другой наподобие электрического провода тех времен, когда еще не делали встроенной электропроводки, и есть тот самый комплекс синтетических полинуклеотидов, та самая удивительная спираль, изучением биологической активности которой заняты десятки исследователей во всех концах земного шара.

А ведь противовирусная активность спиралей полинуклеотидов была обнаружена совсем недавно. Только в 1967 году было впервые сообщено об этом установленном экспериментально факте.

Свойства спиралей и в самом деле удивительны. Сейчас еще трудно, наверное, еще и рано говорить о том, придут или не придут препараты этого класса в клинику, будут ли они в какой-то мере использоваться для лечения человека. Но пока нет других веществ, которые с такой интенсивностью могли бы подавлять размножение самых разнообразных вирусов.

В одной из лабораторий удалось подавить размножение весьма активного вируса — вируса везикулярного стоматита в человеческих клетках при концентрации препарата всего две молекулы на клетку! Две молекулы на клетку, две молекулы на целую галактику из мириад молекул!

При введении в организм лабораторного животного препарата в его крови образуется интерферон в таких количествах, которые никогда не обнаруживаются ни при одной вирусной инфекции. Причем этот интерферон можно обнаружить уже через два часа после введения синтетических полинуклеотидов.

Защитный эффект при введении загадочных спиралей может сохраняться от нескольких дней до (в отдельных случаях) недель. Самым поразительным оказалось, что противовирусный эффект полинуклеотидов в большинстве случаев много выше, чем это можно было бы ожидать, судя по количеству обнаруживаемого интерферона.

Если мы введем в экспериментальную систему то количество защитного белка интерферона, которое стимулирует в ней применение синтетических полинуклеотидов, то уровень защиты от введенного интерферона будет намного ниже.

В чем тут дело, толком никому еще не ясно. Возможно, что противовирусное действие полинуклеотидов много сложнее, чем просто стимуляция интерферона.

Решение этой задачи — дело будущего. Пока же большинство исследователей полагают, что в основе профилактического, а также обнаруживаемого иногда и лечебного действия этих препаратов лежит интерферон. Хотя достоверно установлено, что они могут, помимо всего прочего, и другими путями влиять на состояние противовирусной защиты организма человека, например активизировать его иммунные системы, способствовать выработке защитных противовирусных антител.

Между тем спектр действия интерфероногенов также необычайно широк, как и самого интерферона. И не однажды у исследователей возникала мысль: не могут ли они оказаться полезными в борьбе против вирусов, вызывающих образование опухолей?

Такие эксперименты на животных проводились в некоторых лабораториях. Сообщали о явном профилактическом действии интерфероногенов при заражении животных опухолевыми вирусами. Иногда удавалось предотвращать образование опухолей и даже вызывать их рассасывание.

Следует все же отметить, что опыты такого рода ни в коей мере не вышли еще за рамки лабораторных экспериментов.

Изучение интерферона и интерфероногенов еще далеко от завершения. Но все чаще мы получаем добрые вести с этого участка фронта борьбы с вирусными инфекциями.

Противовирусные препараты — первые шаги

Интерферон это хорошо, но этого мало. Надо иметь еще ряд препаратов, которые быстро и эффективно оста-

новили бы начавшуюся вирусную инфекцию. Хорошо, если бы они действовали, как аспирин или анальгин. Выпил — и нет температуры, и боль проходит, снова здоров. Речь идет о создании химиотерапии вирусных инфекций.

За последние десятилетия испытаны сотни и сотни веществ, которые, казалось бы, угнетают и подавляют размножение вирусов, но при детальном рассмотрении почти каждый раз выяснялось, что этот результат получается в основном за счет повреждения клеток, где они размножаются.

Вирус вне организма, вне клетки, в так называемой покоящейся форме доступен уничтожающему воздействию самых различных факторов — тепла, ультрафиолетового облучения, разнообразных дезинфицирующих веществ. А внутри живой клетки? В этом случае положение в корне изменяется. И именно в силу этого практически все известные противовирусные вещества фактически никак не влияют на вирус покоящийся.

Противовирусные вещества должны быть как можно менее ядовиты для живой материи и в то же время направлять жизнедеятельность клеток таким образом, чтобы исключить возможность продукции в них инфекционных вирионов. Нужно ли говорить, что успехи химиотерапии целиком зависят от фундаментальных исследований по молекулярной биологии вирусов. Или, проще говоря, от разгадки секретов размножения вирусов в живой клетке.

Такие мощные антибактериальные препараты, как антибиотики, сделавшие переворот в лечении инфекционных болезней, вызванных бактериями, совершенно безразличны для вирусов. До сих пор не существует ни одного антибиотика, который был бы активен против вирусов.

Трудностей, как это видно, немало. Но несмотря на то что для работы по изысканию противовирусных веществ выражение поэта «грамм добыча, в год труды» звучит несколько оптимистично, исследования эти развернуты широким фронтом.

До сих пор почти отсутствуют клинически пригодные антивирусные препараты, хотя получено уже значительное число антибиотиков и антиметаболитов, обладающих выраженной способностью подавлять развитие вирусов (актиномицин Д, пуромицин, циклогексимид, митомицин С, фторфенилаланин, этидиумбромид, БУДР и др.).

Все эти препараты, активные в пробирке, малоэффективны при введении в организм. Тем не менее, несмотря на небольшое значение для практики, использование таких препаратов играло и играет существенную роль для исследования вирусов, позволяя прерывать течение инфекционного процесса, подавлять отдельные звенья метаболизма клеток и т. д. Это, в свою очередь, дает возможность определять продолжительность течения отдельных этапов размножения вирусов, вычленять отдельные стадии, устанавливать взаимосвязь между ними, взаимоотношения между синтезом вируса и метаболизмом клеток и решать ряд других вопросов.

Есть два важных для практики направления, которые непосредственно связаны с разгадкой секретов взаимодействия вирусов и клеток. Первое сводится к подавлению вплоть до полной остановки размножения вирусов; второе преследует прямо противоположную цель. Речь идет о поисках путей получения максимальных количеств вируса из зараженных клеток, получении высоких «урожаев» вируса. Обе задачи важны. Подавление размножения вирусов связано с поисками безвредных противовирусных препаратов, а усиление размножения — с получением активных вакцин.

Но вернемся к главной теме разговора. Поиск идет по двум основным путям: направленный поиск и скрининг. В первом случае предпринимаются попытки использовать известные свойства химических соединений для целенаправленного воздействия на тот или иной этап репродукции вируса. То есть изучение идет от предполагаемого механизма действия к препарату.

Второй путь опирается на испытанный веками «метод тыка», предполагая вылавливание активных препаратов среди широкого спектра химических соединений различных классов. Не следует иронически улыбаться: вспомним, что в открытии многих лечебных средств, в том числе и антибиотиков, случай сыграл немалую роль. Скрининг (английское screening — отбор, просеивание) призван научно использовать «его величество случай». Здесь, как видите, поиск идет от препарата, а механизм, как полагают, приложится после.

Число препаратов, взятых учеными на заметку, растет довольно быстро. Некоторые химические соединения уже успешно применяются в практике. Так, для использования в клинике рекомендован препарат оксолин, эффективный

при лечении некоторых вирусных заболеваний глаз, кожи и верхних дыхательных путей. Кутизон рекомендуется применять при гриппе.

Изыскиваются препараты, влияющие на размножение вирусов, содержащих дезоксирибонуклеиновую кислоту. К этой группе относятся возбудители оспы, цитомегалии, а также так называемый «обезьяний вирус Б», вызывающий смертельное заболевание человека, и многие другие.

Исследуя биохимические процессы в клетках, ученые обнаружили, что при вирусной инфекции резко повышается активность некоторых ферментов, имеющих непосредственное отношение к синтезу нуклеиновых кислот клетки и вируса. Это позволило теоретически обосновать лечебное применение 5-бромуридина и 6-азауридина — аналогов азотистого основания уридина, входящего в состав нуклеиновых кислот.

Экспериментально изучен лечебный эффект 6-азауридина при заболевании глаз, искусственно вызванном у кроликов вирусом герпеса. Положительное воздействие препарата выражено чрезвычайно ярко. Скоро он придет в клиники для лечения тяжелого герпетического поражения глаз человека, зачастую ведущего к слепоте.

Другой препарат этой группы 5-бромуридин в экспериментальных условиях резко подавляет размножение вируса оспы. Оба препарата довольно токсичны и потому применяются в основном наружно, местно, то есть непосредственно в очаге поражения, однако были предприняты успешные попытки общего применения их при крайне тяжелых случаях оспы, а также энцефалита, вызванного вирусом герпеса.

Против вызывающих заболевания человека вирусов оспы и аденовируса, также содержащих дезоксирибонуклеиновую кислоту, применяют препарат марборан, одно из производных вещества тиосемикарбазона. Этот препарат оказал бесспорное профилактическое действие во время эпидемий оспы в Индии и «младшей сестры оспы» — аластрима в Бразилии. Однако лечебного действия он не оказывает.

Амантадин довольно-таки активно подавлял размножение некоторых содержащих рибонуклеиновую кислоту вирусов, особой чувствительностью к нему обладал вирус гриппа. Амантадин активен на первом этапе взаимодействия вируса и клетки, это значит, что его можно применять в целях профилактики. Еще лучше зарекомендовал

себя римантадин, производное амантадина, который укорачивает длительность заболевания гриппом и облегчает его течение.

Интерес вызвали попытки применения против вируса гриппа одновременно интерферона и амантадина. Комбинированное воздействие этих препаратов, особенно на ранних стадиях инфекции, приводило к полному подавлению размножения вирусов. Химиотерапия вирусов делает пока первые шаги. Ее результаты пока скромные, но они обнадеживают.

Нуклеазы против вирусов

Один из типов веществ, на которые в последнее время обращают внимание ученые, рассчитывая на их противовирусное действие,— нуклеазы. Это белковые ферментативные вещества, вызывающие быстрое расщепление нуклеиновых кислот, в результате которого последние быстро теряют свою активность и в конце концов разрушаются.

Нуклеиновые кислоты, носители инфекционных свойств вирусов,— та магическая книга, в которой генетическим кодом записаны планы всех его зловещих дел. Этот мельчайший комочек органической материи несет на себе колоссальную информацию, определяющую все этапы взаимодействия вирусной частицы с клетками, все стадии производства нового поколения вирионов. Выделенная из вирусных частиц специальными методами нуклеиновая кислота моментально разрушается, если на нее подействовать нуклеазой. Причем существует строгая специфичность: рибонуклеиновая кислота расщепляется только рибонуклеазой, а дезоксирибонуклеиновая — дезоксирибонуклеазой.

Могут ли эти ферменты защищать клетки от нашествия вирусов?

Как уже говорилось, вирус, вне организма покоящийся, защищен прочной белковой оболочкой, покрывающей его нуклеиновую кислоту, поэтому сами по себе вирусные частицы не чувствительны к нуклеазам. При внедрении в клетку вирусная частица «раздевается», нуклеиновая кислота освобождается от защитного белкового покрытия, а затем вступает во взаимодействие с элементами клетки, начиная свою разрушительную деятельность.

Оказалось, что именно в этот момент инфекционное начало вирусной частицы — рибонуклеиновая или дезоксирибонуклеиновая кислота — может быть подвергнуто успешной атаке нуклеаз.

Казалось бы, все ясно, однако инактивация проникающего в клетку вируса происходит далеко не всегда, не в любом случае может быть обеспечена встреча «раздетой» вирусной нуклеиновой кислоты и ее врага — нуклеазы. Существуют, как показали дальнейшие исследования, и другие пути влияния нуклеаз на вирус внутри клеток. И осуществляется такое влияние через клетку, посредством клетки. Дело в том, что нуклеазы, не нарушая существенно жизнедеятельность клеток, как бы приглушают их — размножение замедляется, процессы биологического синтеза затормаживаются, нарушаются и процессы воспроизводства вирусных частиц.

Пока еще далеко не все детали влияния нуклеаз на размножение вирусов в достаточной степени понятны, но в условиях эксперимента они показали высокую подавляющую активность в отношении разнообразных вирусов: герпеса, гриппа, полиомиелита, оспы, ящура и др. Получены обнадеживающие результаты при перенесении экспериментального опыта в клинику, в практику лечения больных людей.

Дезоксирибонуклеаза применяется для лечения герпетических поражений, а в случае вирусных менингитов и при заболевании клещевым энцефалитом эффективна рибонуклеаза.

Важно отметить, что нуклеазы относятся к естественным ингибиторам, они не чужеродны организму и поэтому легко проникают в его самые глубокие уголки, обычно прочно закрытые для инородных веществ. Например, они легко достигают центральной нервной системы, проходя через так называемый гематоэнцефалический барьер.

Это лекарство, которое организм сам охотно доставляет в самые различные органы.

Существует мнение, что нуклеазы представляют собой часть системы противовирусной защиты организма. Показано, что содержание рибонуклеазы в спинномозговой жидкости больных клещевым энцефалитом в остром периоде болезни повышается, причем чем выше содержание нуклеазы, тем легче протекает заболевание. В пользу гипотезы о причастности нуклеаз к оборонительному барьеру организма говорят и многие другие факты. Установлено, что при заражении клеток вирусами всегда происходит увеличение активности клеточных нуклеаз.

В ряде случаев удалось обнаружить, что рибонуклеазы,

располагаясь ближе к клеточной оболочке, образуют как бы защитный вал.

В экспериментальных условиях рибонуклеазу удается успешно комбинировать с интерфероном. Интерферон также естественный ингибитор. Сочетание двух естественных ингибиторов размножения вирусов, по всей видимости, перспективно. Оба препарата как бы дополняют друг друга, значительно увеличивая в результате общий эффект.

Вполне возможно, что малотоксичные препараты нуклеаз, занявшие прочные позиции в ряду противовирусных веществ, в дальнейшем могут быть более широко использованы для борьбы с опасными инфекционными заболеваниями человека.

* * *

Лечение вирусных заболеваний до сих пор остается сложнейшей проблемой. Нельзя надеяться, что решение ее возможно кавалерийской атакой, одним сокрушительным ударом. Надежные «таблетки от вирусов» вряд ли появятся в аптеках в ближайшие годы. Но, как мог убедиться читатель, в этом направлении проводятся разносторонние, глубокие и перспективные исследования. Дальнейшее изучение своеобразного подхода, подразумевающего одновременное воздействие на принципиально различные этапы вирусной инфекции, приведет, может быть, к результатам, далеко превосходящим наши ожидания.

Лозунг искателей новых лечебных средств: «Сегодня — теория, завтра — терапия» — звучит в наши дни как никогда актуально.

Экскурсия завершающая

ЗАГЛЯНЕМ В ЗАВТРА, ИЛИ НОВЫЕ ПУТИ

Границ научному познанию и предсказанию предвидеть невозможно.

Д. И. Менделеев

Вирусология в «век биологии»

В настоящее время биология, как ранее физика и химия, заняла лидирующее положение в естествознании. В связи с этим получили право на жизнь такие термины, как «век биологии», «биологическая революция». Они в известной степени характеризуют новый этап научно-технической революции и всевозрастающую роль биологических исследований в жизни человеческого общества. Для биологической революции в целом характерно все более широкое использование методов точных наук (физики, химии и математики), что, в свою очередь, делает биологические знания более точными и доказательными. Конкретно эта ситуация выражается в молекулярном уровне современных биологических исследований. Именно этот подход позволил сделать такие эпохальные открытия, как расшифровка генетического кода, синтез белков (инсулин, лизоцим, рибонуклеаза) и генов; доказать единство органического мира (от вирусов до человека); определить строение ДНК и РНК. И многим здесь наука обязана вирусам, которые оказались одним из наиболее удобных объектов для изучения почти всех перечисленных выше фундаментальных проблем.

Биологическая революция отразилась на облике современной вирусологии, обогатив ее рядом важнейших результатов и подняв на качественно новый уровень. Из науки в целом описательной, накопившей обширный багаж общих и частных наблюдений, вирусология за последние два десятилетия превратилась в точную биологическую дисциплину. До сих пор не закончилась взаимная притирка основных ветвей вирусологии: классической и молекулярной. Первую интересует прежде всего роль вирусов в патологии различных живых существ (человека, животных, растений и бактерий), вторая изучает физико-химические свойства вирусов и особенности их размножения.

Эти два лица современной вирусологии сливаются теперь в сущности в одно, отражая тем самым логику развития биологических знаний и вселяя надежду на решение еще не решенных проблем.

О тактике и стратегии

Итак, профилактика вирусных заболеваний и борьба с ними, начатая задолго до того как были открыты сами вирусы, развиваются по-разному, точнее, по различным направлениям, имея перед собой одну и ту же цель. Какие же это направления? Вакцинация. Созданы уже десятки вирусных вакцин, среди которых вакцины против кори и полиомиелита отличаются высокой эффективностью. Это, говоря образно, иммунопрофилактический фронт. Второе направление лежит на пути выделения или индукции клеточных факторов защиты против вирусных инфекций, и в первую очередь интерферона. Постепенно набирает силу и третье направление — химиопрофилактика и химиотерапия. По мере изучения экологии вирусов совершенствуются и методы борьбы за прекращение циркуляции вирусов среди естественных хозяев — людей, животных и растений.

Применительно к сельскохозяйственным животным и растениям перспективен еще один путь — выведение пород и сортов, генетически устойчивых к вирусным заболеваниям.

Все эти направления могут быть охарактеризованы как тактические, так как они ориентированы главным образом на лечение, ограничение, искоренение и профилактику наиболее распространенных вирусных заболеваний, опасных для здоровья или наносящих экономический ущерб. Целесообразность их проведения и необходимость усовершенствования очевидны. Это основная задача всех специалистов, изучающих вирусы.

Уместно, однако, заглянуть дальше вперед и выработать общую стратегию наступления на вирусные инфекции. И здесь, казалось бы, академическая проблема происхождения вирусов становится весьма практической, прикладной, то или иное решение которой будет определять и основные направления общественной деятельности.

Если исходить из гипотезы происхождения вирусов от доклеточных форм жизни, то основная задача научной разработки проблемы сводится к раскрытию экологии и

путей эволюции разных групп вирусов, и прежде всего тех из них, которые вызывают заболевания человека и полезных для него животных и растений. Несмотря на всю грандиозность задачи, можно представить и основные ее контуры, и основные направления в поисках ее решения.

Конечно, некоторые частные проблемы общей стратегии наступления на вирусы в настоящее время кажутся невероятно трудными и осуществление их представляется как дело отдаленного будущего. В качестве примера можно привести искоренение онкогенных РНК-содержащих вирусов, геном которых стал составной частью клеточных хромосом человека, млекопитающих и птиц. Методы генной инженерии, которые должны решить эту задачу: освобождение или прочная блокировка вирусных геномов в хромосомах, пока представляются фантастическим замыслом, подступы к его исполнению пока неясны даже при максимальной силе воображения.

Однако мы часто недооцениваем возможностей темпов прогресса науки. Пересадка генов в клетки человека еще пять лет назад казалась плодом буйной фантазии, а ныне она осуществлена. Поэтому не будем пессимистами: есть основания быть уверенными, что и такие задачи посильны для науки завтрашнего или послезавтрашнего дня. Суммируя сказанное, можно сделать вывод: признание первой гипотезы означает, что общая стратегия наступления на вирусные инфекции будет заключаться в развитии направлений, которыми характеризуется нынешняя тактика борьбы с вирусными болезнями.

Иначе станет вопрос, если окажется правильной гипотеза происхождения вирусов из клеточных структур. Из этой гипотезы вытекает не только полифилетическое происхождение вирусов, но и допущение, что образование вирусов — непрерывный процесс, продолжающийся и в настоящее время, а не только на ранней, безвозвратно ушедшей в прошлое стадии «первичного бульона», когда возникли первоначальные формы жизни.

Раскрытие экологии и эволюции разных групп вирусов, которое сохраняется в качестве одной из основных задач и при признании рассматриваемой гипотезы, приобретает некую неопределенность, так как сходство, скажем, пулеобразных вирусов может быть обусловлено не древностью их происхождения и последующей длительной эволюцией, а повторностью происхождения из одних и тех же клеточных структур. Применительно к человеку, сельскохозяй-

ственным животным и растениям вероятность появления из клеточных структур новых вирусов не только не уменьшается, но резко увеличивается, поскольку экологические шансы распространения их в современном человеческом обществе, среди стад приручённых животных и на плантациях культурных растений неизмеримо выше, чем в далеком доисторическом прошлом. Поэтому основной задачей наряду с изучением экологии и эволюции вирусов становится научная разработка вопросов их биосинтеза, решение которой и определяет общую стратегию наступления на вирусные инфекции.

Таким образом, выбор стратегии наступления на вирусы будет определяться решением проблемы их происхождения и эволюции. Нам представляется поэтому целесообразным привлечь к проблеме внимание всех тех, кто проявляет научный и производственный интерес к вирусным инфекциям. Пути решения ее пока во многом неясны. Однако (как это уже часто бывало в истории науки) точно сформулированная цель, программа познания помогают более целеустремленно, успешно и быстро добывать необходимые знания.

Без вирусов?

Научные прогнозы — вещь рискованная, особенно если это прогнозы долгосрочные. Современники Жюля Верна его романы воспринимали как дерзкую фантазию, а нынешнему читателю они кажутся старомодно наивными: стремительно развивающаяся наука оставила далеко позади себя самые смелые идеи прошлого.

Следующие два примера свидетельствуют, как ненадежны могут быть также и краткосрочные прогнозы. Два-три десятка лет назад, когда были широко испытаны вакцины против гриппа, победа над этой болезнью казалась близкой. Последующие годы, однако, принесли разочарование, и ныне даже крайние оптимисты понимают, что нужны еще многие годы кропотливой и упорной работы, пока будут одержаны первые прочные успехи в борьбе с самой распространенной инфекционной болезнью.

Примерно в то же время, три десятилетия назад, борьба с полиомиелитом казалась почти безнадежной, и тяжкий недуг ежегодно собирал жатву в виде многих тысяч умерших и оставшихся в живых тяжелыми калеками. Но в течение последующего неполного десятилетия

благодаря открытиям Д. Эндерса, Д. Солка и А. Себина, усилиями которых были созданы эффективные вакцины, стало возможным в кратчайшие сроки одержать победу над полиомиелитом.

Эти примеры невольно приходят на память, когда думаешь о перспективах борьбы с вирусами.

Диапазон патологических процессов, вызываемых вирусами, многообразен: от острых инфекционных болезней до злокачественного перерождения клеток.

Далеко не все вирусы виновники тяжелых патологических процессов. Даже такие болезнетворные вирусы, как возбудители полиомиелита, вызывают развитие параличей лишь у части заразившихся, у большинства же болезнь протекает в виде легкой лихорадки с желудочно-кишечными расстройствами или даже вовсе без признаков заболевания, в виде бессимптомной инфекции. Многие вирусы, открытые в течение последних полутора десятилетий, вероятно, способны вызвать у человека легкие, скоропроходящие расстройства или бессимптомную инфекцию.

В связи с этим правомочен вопрос: а нужно ли ставить перед медицинской наукой, пусть даже в отдаленном будущем, задачу искоренения вирусов?

Один и тот же вирус в разных условиях может вызывать то острую вирусную инфекцию, то хроническую инфекцию, то злокачественное перерождение клеток. Правда, подобного рода разнообразные действия обнаружены лишь у некоторых вирусов и при специально подобранных условиях лабораторного эксперимента, однако эти данные позволяют сделать вывод, что вирусы — нежелательные обитатели человеческого организма, даже если их пребывание не вызывает видимых вредных последствий.

Таким образом, перед медицинской наукой и ее разделом — вирусологией стоит задача искоренения вирусных заболеваний и вирусов, паразитирующих в организме человека.

Задача эта сложная и необычно трудная, и поэтому даже при самом оптимистическом подходе придется признать, что для окончательного ее решения потребуется не одно столетие. Борьба с вирусами будет протекать многоэтапно, и каждый этап потребует громадных усилий и кропотливого труда не одного поколения вирусологов и практических медицинских работников.

Оспа стала инфекционной болезнью № 1, от которой освободилось человечество.

Корь во многих отношениях сходна с оспой, и ликвидация ее может быть осуществлена также путем поголовной иммунизации населения. В настоящее время есть вакцина против кори, которая дает такой же прочный иммунитет, как и оспенная вакцина. Правда, эта вакцина еще требует усовершенствования, так как у части прививаемых детей она вызывает сильные прививочные реакции. Однако ликвидация кори потребует не одно десятилетие, вакцина эта еще нигде не применяется в достаточно широком масштабе. Следовательно, надо накопить немалый опыт ликвидации кори в масштабе отдельных стран, прежде чем серьезно говорить о ликвидации ее во всем мире.

Благодаря живой вакцине против полиомиелита в СССР впервые в мире осуществлена ликвидация эпидемий этой тяжелой болезни и в настоящее время ежегодно наблюдается не более сотни заболеваний, притом преимущественно в легкой форме, без смертельных случаев и тяжелых параличей. Перед советским здравоохранением поставлена задача дальнейшего наступления на инфекцию, имея конечной целью ее ликвидацию. Задача не столь уж легкая, если учесть, что при полиомиелите наблюдается вирусоносительство, чего нет, например, при оспе, а ликвидация полиомиелита может быть осуществлена лишь в результате полного прекращения циркуляции возбудителя среди населения, в том числе и в виде вирусоносительства. В ближайшие годы станет ясно, можно ли достичь этой цели путем вакцинации; во всяком случае ученые и врачи настроены оптимистично и надеются на принципиальную возможность победы над полиомиелитом.

Список вирусных инфекций, ликвидация которых возможна путем вакцинации, не исчерпывается оспой, корью и полиомиелитом. По-видимому, таким же путем можно будет одержать победу над свинкой (эпидемическим паротитом), краснухой, ветрянкой и, может быть, над инфекционным гепатитом Боткина. Однако все эти проблемы не могут решаться сразу, одним махом. Перечисленные вирусные болезни, за исключением гепатита, относятся к так называемым малым инфекциям, они чаще всего протекают доброкачественно, и поэтому до них, так сказать, руки не доходят, пока здравоохранение занято более важными задачами. К тому же вакцина есть только против паротита, ее нет против краснухи и ветрянки. Но, несомненно, со временем придет черед и этих инфекций.

Что же касается инфекционного гепатита, то уже,

как вы помните, удалось не только доказать вирусную природу болезни, но и выделить и прочно закрепить в лабораторных условиях вирус. Естественно, что нет пока вакцины против гепатита. Когда будет получена такая вакцина и испытана ее эффективность, можно будет более определенно говорить о снижении и ликвидации тяжелой болезни.

Далеко не при всех вирусных болезнях массовая вакцинация служит надежным средством. Это, в частности, относится и к самой распространенной вирусной болезни — гриппу. Даже лучшие образцы гриппозных вакцин могут обеспечить лишь снижение, но не ликвидацию гриппа. Если к этому добавить, что сами вирусы гриппа изменяются со временем, то станет понятным, насколько трудна и в научном и в практическом плане проблема борьбы с гриппом.

Но это еще не все. Если бы даже против всех вирусных заболеваний были получены вакцины, вряд ли можно было бы охватить прививкой всех людей. Здесь нужны какие-то новые подходы. Один из возможных путей решения сложной проблемы наметила химиотерапия, которая оказалась столь эффективной в борьбе с бактериальными и протозойными инфекционными болезнями.

Мы описывали вирусные болезни, передающиеся комарами, москитами, клещами. Для борьбы с ними применяются как вакцины, так и средства уничтожения переносчиков — инсектициды. Разумное применение этих средств позволяет обеспечить снижение заболеваний людей. Успехи в борьбе с желтой лихорадкой или клещевым энцефалитом — наглядный тому пример. Мы уже стремимся к полной ликвидации этих опасных заболеваний. Насколько это трудноразрешимая проблема, можно убедиться на примере борьбы с клещевым энцефалитом. Природные очаги возбудителя рассеяны на громадных пространствах тайги и лесов Дальнего Востока, Сибири, Приуралья, средней полосы СССР и Западной Европы. Естественно, что оздоровление таких территорий в настоящее время совершенно непосильная и нереальная задача. Это задача отдаленного будущего.

Поэтому в борьбе с вирусными инфекциями данной группы вначале должна быть достигнута более реальная цель — защита людей от нападения переносчиков, профилактическая вакцинация людей, работающих в природных очагах, и ликвидация очагов в окрестностях населенных

мест. В Крыму, например, уже накоплен положительный и обнадеживающий опыт борьбы с москитной лихорадкой.

Мы теперь видим, что победа над вирусными инфекциями даже в пределах одной страны, а тем более во всем мире — невероятно трудная и сложная задача, которая будет решаться поэтапно в течение многих десятилетий и даже столетий. Многое уже сделано и будет сделано при жизни нынешнего поколения. И многое из того, что недавно казалось несбыточной мечтой, стало практикой. Стремительный научный прогресс нашего времени дает медицине с каждым годом все новые и более эффективные средства борьбы с вирусными болезнями.

Генная инженерия глазами вирусолога

Понятие «генная инженерия», или «инженерия на генном уровне», лишь недавно стало входить в научный обиход. Ввести новый ген в клетку и, следовательно, наделить клетку необычайными для нее свойствами — задача сложная и увлекательная. В конечном счете речь идет об управлении наследственностью или активном вмешательстве в святая святых природы. Эту задачу экспериментально пытались решить ученые разных специальностей — животноводы, растениеводы и др. В отдельных случаях удавалось добиться неплохих результатов.

Если вдуматься, то генная инженерия осуществляется в природе вирусами. Они представляют собой не что иное, как набор генов, который проникает в чувствительную систему — клетку. Через некоторое время зараженная клетка погибает, произведя на свет новое потомство вирусов. Если вирус условно рассматривать как совокупность генов, защищенных от неблагоприятных воздействий белковой оболочкой, то станет ясным, что после попадания внутрь клетки они как чужеродные гены начинают там свободно распоряжаться сложным клеточным хозяйством. Вначале они заставляют «замолчать» ДНК клетки, блокируя с помощью специальных белков — репрессеров ее работу. Затем, используя механизмы и приборы клетки, которые специализированно производили до сих пор нуклеиновые кислоты и белки, необходимые для жизнедеятельности клетки, они заставляют эти приборы работать на воспроизведение вирусного потомства. Так клетка переключается на производство новых вирусов.

Разгадка закономерностей размножения вирусов легла в основу ряда положений генной инженерии. Суть дела сводилась к следующему. Изучая фаги, ученые обратили внимание на один очень интересный феномен. Оказалось, что, покидая бактерию, фаги часто захватывают участок бактериальной ДНК и не какой-нибудь, а совершенно определенную группу генов. Естественно, что легче всего было найти у таких вирусов ген клеток, заведующий определенной функцией. Например, лактозный ген, отвечающий в бактериях за способность усваивать лактозу (молочный сахар).

Для выделения лактозного гена был применен очень остроумный прием. У одних фагов этот ген располагался в одном направлении, у других — в противоположном. Ученые убрали белковые оболочки у таких фагов и изолировали их ДНК, затем подвергли ДНК нагреванию и специальной химической обработке, заставив двойные спирали развернуться и разделиться на две составляющие — тяжелую и легкую нити. Тяжелые нити были изолированы, так как именно в них был заключен искомый лактозный ген. Затем тяжелые нити двух фагов смешали, нагрели и медленно охладили. В результате тяжелые нити двух фагов образовали новую двойную спираль, однако она была комплементарна лишь в той части, где у них было одинаковое, но по-разному расположенное звено — лактозный ген бактерии. В остальных частях двойной спирали химическая связь отсутствовала. Поэтому их удалось легко растворить специальным ферментом и получить искомый лактозный ген, или участок ДНК, ответственный за одну-единственную генетическую функцию. Ген удалось рассмотреть в электронный микроскоп. Он имел длину 1,4 микрометра и состоял из 4000 пар нуклеотидов.

Эта работа делает реальным лечение в перспективе наследственных заболеваний, причина которых лежит, в сущности, в отсутствии в генетическом аппарате клеток генов, управляющих определенными функциями. Предположим, болезнь клеток связана с тем, что они не могут усваивать лактозу, то есть у них отсутствует лактозный ген. Если его ввести, функция будет восстановлена и клетки станут здоровыми. Такая работа была недавно с успехом выполнена. Теоретически в клетки можно ввести и новые необычные для нее гены. В перспективе генная хирургия, так образно называют эту перспективную область исследований, позволит целенаправленно удалять, замещать или

добавлять гены в наследственный аппарат клетки. Нужные для такой «пересадки» гены будут предварительно выделены или специально синтезированы.

Ученым известны примеры подобной трансформации (так называется это явление) бактерий с помощью плазмид — вирусообразных структур. Так, если плазмидами, полученными на бактериях, устойчивых к антибиотикам, заразить бактерии, чувствительные к антибиотику, то эти бактерии приобретут устойчивость без предварительного контакта с антибиотиком. Причиной такого эффекта является перенос гена устойчивости с помощью плазмидной ДНК. Другой пример — перенос фагом способности выделять токсин (яд) дифтерийными бактериями, которые были до встречи с фагом неядовитыми. По-видимому, вирусами же переносится из раковых клеток в нормальные ген рака. Об этом мы уже говорили.

Если в будущем удастся успешно разрешить проблему более или менее свободной манипуляции с генами, перед нами открываются фантастические перспективы: лечение доселе неизлечимых наследственных заболеваний, преодоление барьера несовместимости, ограничивающего пересадку органов, получение высокопродуктивных пород скота, сельскохозяйственных культур — словом, исправление или даже переделка того, что создано природой и что нас не удовлетворяет.

Академик А. Баев, очерчивая круг операций и манипуляций, которые предстоят генной инженерии, намечает пять основных задач: выделение гена из природного материала; синтез гена в лаборатории («в пробирке»); модификация гена с целью придать ему нужную структуру; кроме того, надо научиться заставлять ген размножаться (самокопироваться) и, наконец, найти пути введения в клетку нужного гена и присоединения его к генетическому материалу клеточного ядра, то есть сделать ген составной частью клетки.

Каждая из этих задач сама по себе чрезвычайно сложна. Как мы уже видели, по крайней мере первая и последняя из них могут успешно решаться с помощью вирусов. Вирусы захватывают гены клеток и переносят их в другие клетки. Здесь следует напомнить, что сама по себе эта процедура — введение гена в клетку — не так проста, как это может показаться. Клетка хорошо защищена от проникновения таких крупных молекул, как ДНК, а вирус проделывает эту работу очень элегантно. У фагов, как вы

уже знаете, существует шприцевой механизм для преодоления толстой бактериальной оболочки. А вирусы животных используют созданное природой свойство клеток «заглатывать» и переваривать инородные частицы. Этот процесс носит название фагоцитоза. Его открыл и описал наш соотечественник гениальный ученый Илья Мечников. Итак, клетки, не ведая о последствиях, проглатывают вирусы, как обычную пищу, и тем самым выпускают джинна из бутылки.

Уместно напомнить, что вирус настолько же меньше клетки, насколько кирпич меньше небоскреба или мышь меньше слона. И тем не менее этот карлик ухитряется справляться с гигантом. Как мы уже видели, у вирусов нет ничего лишнего. Они устроены предельно экономно и целесообразно: сравнительно небольшая нуклеиновая кислота, содержащая конспект программы производства потомства, защитный белковый чехол, и все. И это оказывается достаточным для переноса полезной и вредной информации.

Другой пример — пересадка генов, управляющих усвоением азота прямо из атмосферы в бактерии, ранее такой способностью не обладавшие.

Очевидно, получение готовых генов само по себе дело не простое, но гораздо сложнее синтезировать гены, собрать их по частям. Это титаническая работа, так как вначале надо расшифровать последовательность нуклеотидов в реально существующем гене, а потом ее воспроизвести, нанизывая нуклеотиды один за другим на воображаемую двойную спираль ДНК. И тем не менее такая работа уже проводится. Известный индийский биохимик Кхорана недавно синтезировал первый искусственный ген, доказав тем самым реальность подобных исследований.

«Человек должен верить, что непонятное можно понять — иначе он не стал бы размышлять о нем» (Гёте).

Убиквитарны, то есть вездесущи...

Будучи автономными саморепродуцирующимися структурами — продуктами эволюции фрагментов организма — вирусы не только подчиняются законам эволюции органического мира, но и сами влияют на эволюцию жизни на Земле.

Среди генетических процессов, определяющих эволюцию биологических видов, необходимо отметить мутации. Молекулярными механизмами мутаций являются либо выпадения, либо замены оснований в отдельных участках ДНК, вследствие чего происходят изменения генетического кода, а следовательно, и свойств белка, которые кодирует данный ген. Мутации поэтому приводят к разбросу, вариациям свойств отдельных особей популяции.

С другой стороны, при скрещивании происходит обмен генетической информацией родительских особей, в результате чего потомство наследует в той или иной степени свойства родителей. На молекулярном уровне этот процесс обеспечивается обменом аналогичными участками родительских ДНК (рекомбинация, перекрест хромосом). Этот процесс имеет противоположную направленность по сравнению с мутациями и ведет к усреднению свойств отдельных особей популяции. Оба процесса, взаимодействуя между собой, «обеспечивают» поступательное развитие, эволюцию популяции биологического вида, а естественный отбор закрепляет те свойства вида, которые дают ему наибольшую приспособленность к среде обитания.

Однако когда генетики провели математические расчеты, то оказалось, что во многих случаях темпы эволюции гораздо выше, нежели они должны быть, если исходить из частоты происходящих мутаций и рекомбинаций. В чем тут дело? Вероятно, в существовании дополнительных факторов, каким-то образом ускоряющих эволюцию. Одним из таких факторов могут быть вирусы.

Мы видели, что вирусы вездесущи и нет, пожалуй, ни одного вида животных или растений, которые бы ими не поражались. Выше уже говорилось о возможных соседях вирусов справа и назывались в качестве таковых микоплазмы — мельчайшие бактерии, проходящие через бактериальные фильтры. Оказалось, что и у микоплазм есть паразитирующие на них вирусы... Итак, вирусы убиквитарны, то есть вездесущи.

Одним из важных их свойств, которые более подробно рассмотрены нами в экскурсии четвертой, является их интеграбельность, способность генетического материала (ДНК) вируса встраиваться в хромосому клетки и становиться ее составной частью. При этом поскольку клетка приобретает новые гены, она, естественно, обзаводится и новыми свойствами, или, как говорят, трансформируется. Процессы трансформации были открыты вначале у

бактерий. Еще в 1928 году было установлено, что при смешивании живых невирулентных пневмококков с убитыми вирулентными невирулентные бактерии приобретают вирулентность. Позже, через 15 лет, удалось выяснить, что вирулентность передается группой генов от убитой вирулентной живой невирулентной бактерии. Перенос генов особенно легко осуществляется с помощью вирусов, паразитирующих на бактериях, и вирусоподобными образованиями — эписомами, или плазмидами (мы их называем эпивирусами), которые в отличие от вирусов неспособны к самостоятельному размножению; эту роль берет на себя клетка, точнее, клеточные ферменты.

Нетрудно видеть, что вирусы могут привносить в клетку целые гены и группы генов. Дифтерийные бактерии, например, сами по себе не могут производить (продуцировать) токсин — тот самый, который вызывает у больных детей тяжелые поражения (некроз, разрушение) тканей слизистых оболочек дыхательных путей. Но если их заразить вирусом — дифтерийным фагом, то они приобретают способность продуцировать этот токсин. Таким образом, дифтерия, как показало кропотливое изучение именно данного взаимодействия бактерий и вирусов, является вирусной болезнью бактерий, от которой страдает человек.

Другой пример — устойчивость к антибиотикам, приобретаемая бактериями, ранее чувствительными к ним. В ряде таких случаев было показано, что устойчивость к антибиотикам (нередко одновременно ко многим) возникает в результате заражения бактерий эпивирусом, несущим гены ферментов, разрушающих эти антибиотики.

Детальный анализ взаимодействия вирусов с поражаемыми ими клетками позволяет прийти к заключению, что подобного рода явления широко распространены в органическом мире на Земле. Поэтому была выдвинута гипотеза о вирусах как универсальных переносчиках генетической информации и важном факторе эволюции жизни на Земле. В отличие от указанных выше генетических процессов (мутации и рекомбинации), при которых происходят изменения отдельных участков генов и новые свойства распространяются внутри популяции одного и того же вида, вирусы переносят целые гены или даже группы генов, притом нередко преодолевая межвидовые барьеры. Объяснение такой поразительной их способности следует искать в том, что они могут паразитировать не только на

биологически близких видах, но и на видах, относящихся к эволюционно далеким видам и даже к разным царствам. Яркий пример того — вирусы теплокровных животных, передаваемые насекомыми и клещами, вирусы растений, для которых переносчиками служат тли и глисты.

Таким образом, вирусы, будучи переносчиками генетической информации, ускоряют темпы эволюции жизни и обеспечивают единство органического мира. Благодаря вирусам достижения эволюции в какой-либо группе живых существ могут становиться достоянием других видов и царств. Фигурально выражаясь, вирусы распространяют «передовой опыт» органического мира, укрепляя этим его единство и убыстряя эволюцию.

Так что же такое вирусы?

Вероятно, было бы не очень правильно, если бы мы здесь, в «Завершающей экскурсии», не вернулись к вопросу: так что же представляют собой вирусы с исторической точки зрения, где их место в эволюции жизни на нашей планете?

Мы рассмотрели природу вирусов и пришли к выводу, что вирусы — это не организмы и не клетки, а своего рода неклеточные формы жизни, автономные генетические структуры, зависимые от клеток хозяев, где проходит их жизнедеятельность. Все вирусы — от простейших вироидов до сложнейших вирусов оспы — лишены собственного аппарата синтеза белков, который есть даже у самых мелких и примитивных микроорганизмов — микоплазм, риккетсий, хламидий.

Говорили также о том, что по вопросу о происхождении вирусов нет единой точки зрения, а те, что есть, можно свести в сущности к двум противостоящим друг другу: либо вирусы — потомки первоначальных форм жизни, либо они производные клеточных структур. Между тем от принятия той или иной точки зрения зависит и стратегия борьбы с вирусами и вирусными инфекциями.

Но так уж альтернативны эти два взгляда и так ли категорично требуется принять ту или иную точку зрения?

В истории науки часто бывало так, что взаимоисключающие, казалось бы, теории при дальнейшем развитии становились дополняющими друг друга. В XIX веке, например, противоборствовали две теории света — волновая и корпускулярная, ныне они уже не противостоят друг

другу: движение мельчайшей частицы света — фотона описывается волновым уравнением. Или вот еще. На рубеже нынешнего столетия бурные дискуссии вызвали две теории иммунитета: гуморальная теория П. Эрлиха и фагоцитарная — И. И. Мечникова. Первая утверждала, что иммунитет вызывается антителами сыворотки крови, которые нейтрализуют и разрушают антигены — белки бактерий (и вирусов). Вторая исходила из того, что иммунитет обязан фагоцитарной активности лейкоцитов, то есть их способности поглощать чужеродные для данного организма клетки и даже неживые частицы.

В дальнейшем оказалось, что оба ученых правы: иммунитет включает и фагоцитоз и антитела, которые вырабатываются одной из разновидностей лейкоцитов — лимфоцитами. Нобелевский комитет проявил мудрость, присудив премию обоим ученым — И. И. Мечникову и П. Эрлиху.

Похоже, что и обе ныне альтернативные гипотезы происхождения вирусов станут взаимодополняющими благодаря новейшим исследованиям проблемы возникновения жизни на Земле.

Большинство исследователей разделяет и развивает теорию происхождения жизни советского биохимика В. И. Опарина, который выступил с ней еще в 20-х годах. К 70-м годам многие из выдвинутых им идей получили экспериментальное подтверждение.

Эволюция земной жизни началась примерно 4 миллиарда лет назад и прошла три основные стадии: стадию преджизни, или химической эволюции, раннюю жизнь в бескислородной атмосфере и затем жизнь уже в условиях, когда в атмосфере появился кислород. Первая стадия продолжалась около миллиарда лет, вторая примерно столько же, и около двух миллиардов лет назад началась эволюция, которая и привела к появлению жизни в современном ее виде.

Пожалуй, наиболее гипотетична стадия химической эволюции, не оставившая нам никаких таких следов, на основании которых можно было бы восстановить реальный ход событий. Реконструируя эту стадию, мы вынуждены пользоваться более или менее достоверными, как нам представляется, предположениями, косвенными свидетельствами и главным образом моделированием геологических, климатических и прочих условий, существовавших, вероятно, тогда на планете.

Итак, стадия химической эволюции.

Закончился догеологический период образования Земли,

она вступила в геологическую фазу своего развития. Планета была уже покрыта океанами и морями, очертания суши мало напоминали очертания современных материков. В атмосфере практически не было кислорода — его содержание в ней составляло менее тысячной доли современного. Атмосфера состояла в основном из азота, водорода, метана, двуокиси углерода, а также цианистого водорода. Ультрафиолетовые лучи свободно достигали поверхности планеты (в настоящее время все живое на планете защищено от губительного ультрафиолетового излучения озоновым экраном). Экспериментально установлено, что при таком (или даже несколько ином) составе атмосферы под влиянием электрических разрядов, которые, как известно, бывают при грозах, ультрафиолетовой и ядерной радиации получаются разнообразные химические соединения, в том числе органические кислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, аминокислоты, порфирины — все это вещества, которые известны каждому исследователю, имеющему дело с живой тканью.

В небольших, хорошо прогреваемых мелководных бассейнах различного происхождения шла концентрация этих соединений, создавался так называемый «первичный бульон». Миллионы и миллионы лет протекал этот процесс, пока «бульон» не стал достаточно густым, таким, чтобы дать начало образованию высокополимерных органических соединений — протеиноидов (протобелков) и полинуклеотидов. Возможность подобного рода реакций в «первичном бульоне» также была доказана учеными экспериментально — путем моделирования первоначальных условий на планете. Причем эксперименты дали возможность ученым сделать еще один важный вывод: и полимеры аминокислот — протеиноиды и полимеры азотистых оснований — полинуклеотиды могли обладать существенными для возникновения жизни свойствами. Так, у некоторых экспериментальных протобелков обнаружились каталитические способности, то есть способности ускорять химические реакции, а у некоторых оснований — комплементарность (взаимное соответствие в химическом строении макромолекул, чем обеспечивается их взаимодействие) и возможность присоединения к ним аминокислот. Это значит, что, как бы хаотично ни протекали тогда реакции, уже на этой стадии был возможен отбор одного-двух десятков аминокислот, полимеризация которых завершалась образовани-

ем протеиноидов с ферментными свойствами и четырех нуклеотидов со взаимной комплементарностью.

В хаосе случайных химических реакций далеко не случайно могли появиться полимеры — предшественники ныне существующих нуклеиновых кислот и белков!

Образование их было тем более закономерным, что в «первичном бульоне» по мере насыщения его «строительным материалом» должны были неизбежно появляться коацерваты, или микросферы, — микроскопические полые шарики, составленные из аминокислот, жирных кислот, солей и других веществ. На внутренней поверхности этих микросфер биохимические реакции протекали более интенсивно, нежели непосредственно в водном растворе, да и продукты этих реакций не рассеивались, а накоплялись.

Текли миллионолетия, усложнялись реакции, их участники обогащались все новыми и новыми свойствами. В частности, становились более разнообразными ферментные свойства протеиноидов: они катализировали синтез полинуклеотида — нуклеиновой кислоты, присоединяли аминокислоту к нуклеотиду и содействовали синтезу полипептидной (белковой) цепи. Подобного рода ферменты известны ученым, исследующим реальные, а не гипотетические биохимические реакции. Так, например, уже не раз упоминавшаяся в книге обратная транскриптаза имеет три каталитические функции: она ускоряет синтез цепи ДНК на матрице РНК, затем разрушает РНК-матрицу и, наконец, «организует» синтез второй цепи ДНК на матрице уже синтезированной первой цепи ДНК.

Появившаяся еще на стадии химической эволюции полинуклеотидная цепь уже содержала, по-видимому, зачатки генетического кода и получила адапторные функции, то есть функции транспортной ДНК.

Постепенно происходила дальнейшая специализация ферментов: вместо одного малоактивного фермента появилось целых три, причем более активных. Это — репликаза, катализирующая синтез нуклеиновой кислоты, амино-ацил-синтетаза, способствующая присоединению остатка аминокислоты к азотистому основанию, и протеин-синтетаза, отвечающая за образование пептидных связей между аминокислотными остатками в белковой цепи.

Параллельно шла и специализация функций нуклеиновой кислоты. Ее основная нить стала носителем генетического кода, а носителями адапторной функции стали транспортные РНК. Некоторые исследователи полагают, что пер-

вый генетический код был двухбуквенным и кодировал менее десяти аминокислот, по мнению других, он сразу приобрел трехбуквенное значение, то есть с самого начала оказался сходным с современным. Не ясно также, какая из кислот — ДНК или РНК —была первоначальным носителем генетического кода. По всей видимости, универсальный источник энергии — аденозинтрифосфат (АТФ) — тоже появился на более поздних этапах химической эволюции. И вряд ли приходится сомневаться, что современные рибосомальные системы — это достижение начальных этапов биологической стадии эволюции.

Конечно, модельные эксперименты многое дали нам для выработки представлений о ходе химической эволюции, завершившейся появлением протоклетки (предка современной живой клетки) или палеокариота (предшественника нынешних бактерий). И все же нам часто приходится прибегать к словам «вероятно», «по-видимому» и т. д., подчеркивая тем самым далеко не бесспорный характер этих представлений. Гораздо более достоверной является стадия биологической эволюции, даже ее ранние этапы, и этим мы обязаны молекулярной биологии. Исследуя гомологию, то есть сходство нуклеиновых кислот и белков, молекулярные биологи установили, что скорость их изменений, выражающихся в замене нуклеотидов в цепи нуклеиновых кислот или аминокислот в белковой цепи, довольно постоянна для разных групп. А это позволяет не только выявлять степень родства между разными организмами, но и устанавливать их эволюционный возраст.

Биологическая эволюция началась с палеокариотов, древнейших клеточных организмов, имевших уже генетический аппарат в виде двухнитчатой ДНК, рибосомальную систему и генетический код, близкий (а может быть, тождественный) к современному. Затем палеокариоты разделились на две ветви — прокариотов (без обособленного клеточного ядра) и эукариотов (располагавших клеточным ядром). Потомки древних эукариотов — это все организмы, населяющие ныне нашу планету, за исключением бактерий и вирусов. Потомки древних прокариотов — современные бактерии.

Эволюция наделила некоторые бактерии способностью превращать лучистую энергию Солнца в энергию химических связей органических веществ с выделением свободного кислорода O_2. На Земле появился фотосинтез, за пол-

миллиарда лет изменивший состав атмосферы — содержание кислорода в ней увеличилось до одной сотой доли современного. Но поскольку озонового экрана еще не было, жизнь по-прежнему творилась под защитой воды — ниже 10—20 сантиметров от ее поверхности.

В это же время эволюционировали эукариоты. Будучи клетками более крупными, чем бактериальные клетки, эукариоты поглощали бактерии, при этом некоторые бактерии-фотосинтетики стали симбионтами (сожителями) эукариотов. Такой симбиоз оказался полезным для обоих партнеров: прокариот получал готовую пищу в клетке эукариота, а этот — возможность использовать солнечную энергию для ускорения обмена веществ. Через сотни миллионов лет бактерии-симбионты превратились в органеллы, то есть в органы эукариотов. Метод гомологии нуклеиновых кислот позволил точно установить, что хлоропласты растений ведут свою родословную от синезеленых бактерий, митохондрии — от пурпурных бактерий, а жгутики простейших — от спирохет. Даже центриоли — аппарат деления ядра эукариотов — это результат эволюции бактерий-симбионтов.

Эукариоты — не просто ветвь, отделившаяся от основного ствола, то есть прокариотов, они, можно сказать, своеобразные химеры, гибриды первичных ядерных образований и двух — четырех прокариотов, благодаря симбиозу утративших свою самостоятельность и ставших органеллами.

Дальнейшее развитие эукариотов сопровождалось отделением от них новых ветвей: сначала отделились грибы, немного позднее — простейшие, а около двух миллиардов лет назад из эукариотов образовалось два совершенно самостоятельных царства — растений и животных.

С этих двух царств мы начали книгу и своим повествованием добавили к ним третье — царство вирусов. Между тем, строго говоря, органических царств больше. Молекулярно-биологические исследования заставляют нас выделить в самостоятельные царства и грибы, и бактерии, и простейшие. А если быть еще более строгими, то окажется, что бактерии, с одной стороны, а грибы, простейшие, растения и животные, с другой — это две разные группы органического мира. Их теперь называют империями.

Ну а вирусы? Где их место среди этих империй и царств, причем не только сегодня, а с того времени, когда началась на Земле жизнь?

Чтобы ответить на все эти вопросы, продолжим свое путешествие в прошлое.

Начнем с того времени, когда на Земле появился в самой зачаточной форме фотосинтез. Под влиянием фотосинтетической деятельности водорослей, затем наземных растений с более совершенным и более эффективным механизмом фотосинтеза атмосфера планеты стала сильно меняться, в ее верхних слоях сформировался озоновый экран, что создало благоприятные условия для подлинно биологической эволюции, позволив жизни выйти из воды на сушу. Темпы эволюции резко возросли. За каких-нибудь полмиллиона лет растения эволюционировали от водорослей до цветковых, а животные — от кишечнополостных до человека!

Где в это время были вирусы? Да и были ли они вообще? Вирусолог А. Д. Альтштейн высказал такое предположение: в протоклетках палеокариотов происходили диаметрально противоположные процессы; с одной стороны, генетический аппарат усложнялся, его эволюция шла по пути, который мы уже рассмотрели; с другой стороны, он упрощался, превращался в автономные генетические структуры, паразитов протоклеток. А. Ф. Быковский назвал их автономными репликативными комплексами. Этот процесс сопровождал эволюцию прокариотов и эукариотов все время.

Пожалуй, называть автономные репликативные комплексы паразитами верно лишь с одной точки зрения — они с самого начала неспособны были жить вне клеток. Поэтому правильнее было бы называть их симбионтами, а о том, что симбиоз выгоден обоим партнерам, мы уже говорили в начале книги (см. «Экскурсию первую»).

Несомненно также, что на разных стадиях эволюции органического мира вирусные геномы включались в состав клеточных геномов и автономные генетические структуры становились частью клеточных генов. Такие процессы мы наблюдаем и в настоящее время, для примера назовем умеренные фаги бактерий и онковирусы животных. Можно предположить, что геномы современных прокариотов и эукариотов содержат много генов, которые ранее были автономными генетическими структурами, геномами вирусов.

Недавно было сделано интересное открытие. Свойство вирусов встраиваться в разные участки клеточного генома и таким образом становиться подвижными, или блуждающими, генами ученые обнаружили у некоторых клеточных

генетических структур — это так называемые транспозоны.

Еще один интересный факт. В клетке действует своеобразный механизм, этакое «полезное начинание между прочим» (выражение известного советского писателя, употребленное, правда, по другому поводу). Суть этого механизма, названного сплайсингом, в следующем: нить нуклеиновой кислоты образует петлю из участка ДНК, содержащего вирусные гены, и матричный синтез, идущий по нити, минует эту петлю. Сплайсинг стал одним из механизмов регуляции работы генома.

Есть обоснованное предположение, что вирусам принадлежит «честь» изобретения пола: половой процесс у бактерий связан с особой вирусоподобной структурой — с фактором фертильности, или плодородия. Эта вирусоподобная структура проникает в бактериальную клетку через специальную полую ворсинку. Половой процесс стал важнейшим фактором эволюции. (Подумать только: началось миллиарды лет назад с полой ворсинки, а завершилось Афродитой Милосской и Аполлоном Бельведерским!)

Все эти примеры показывают, что вирусы — это и потомки древнейших форм жизни, и производные клеточных структур.

Эволюция сделала их и вредными паразитами, и переносчиками генетической информации, и составными частями геномов клеточных форм жизни, и автономными внехромосомными факторами наследственности. Как и бактерии, которые дали начало органеллам эукариотов, сохранив при этом свою форму, вирусы обогатили геномы клеточных форм жизни, сохранив свою автономность.

Мы едва не похоронили царство вирусов. Теперь видим, что наряду с империей эукариотов и империей прокариотов существует и империя вирусов, состоящая из одноименного царства.

ОГЛАВЛЕНИЕ

О царствах, которые мы видим и не видим (Вместо введения) 3
Экскурсия первая. Вечные странники, или Пыль неведомого 9
Экскурсия вторая. Оружие ученых (Инструменты науки) 87
Экскурсия третья. Частная жизнь невидимок, или Кто кого? 113
Экскурсия четвертая. Самые загадочные и коварные 131
Экскурсия пятая. Уязвимы ли невидимки, или Нападение — лучшая форма защиты 150
Экскурсия завершающая. Заглянем в завтра, или Новые пути 171

Виктор Михайлович Жданов,
Феликс Иванович Ершов,
Александр Сергеевич Новохатский

ТАЙНЫ ТРЕТЬЕГО ЦАРСТВА

Издание второе,
переработанное

Главный отраслевой редактор *В. Демьянов*
Редактор *Н. Яснопольский*
Мл. редактор *М. Вержбицкая*
Художник *Н. Беляева*
Худож. редактор *М. Бабичева*
Техн. редактор *Л. Солнцева*
Корректор *Н. Пехтерева*

ИБ № 3008

Сдано в набор 04.09.80. Подписано к печати 31.03.81. А 05449. Формат бумаги 84×108/32. Бумага тип. № 2. Гарнитура обыкновенная новая. Печать высокая. Усл. печ. л. 10,08 + 0,42 вкл. Усл. кр.-отт. 10,29 + 0,42. Уч.-изд. л. 10,68 + 0,37 вкл. Тираж 70 000 экз. Заказ 2243. Цена 50 коп.

Издательство «Знание». 101835, ГСП, Москва, Центр, проезд Серова, д. 4. Индекс заказа 817714.

Головное предприятие республиканского производственного объединения «Полиграфкнига» Госкомиздата УССР, 252057, Киев-57, Довженко, 3.

50 коп.